



(19)中華民國智慧財產局

(12)發明說明書公開本

(11)公開編號：TW 200942247 A1

(43)公開日：中華民國 98 (2009) 年 10 月 16 日

(21)申請案號：098110262

(22)申請日：中華民國 98 (2009) 年 03 月 27 日

(51)Int. Cl. : *A61K35/14 (2006.01)* *A61L2/02 (2006.01)*

(30)優先權：2008/03/28 美國 61/040,180

(71)申請人：藥品儀器研究基金會(瑞士) RESEARCH FOUNDATION FOR MEDICAL DEVICES
(CH)

瑞士

(72)發明人：班諾夫 希爾瑞 BURNOUF, THIERRY (FR)；艾拉奇亞比 瑪格蒂 EL-EKIABY,
MAGDY (EG)；高布倫 哈迪艾爾福斯 GOUBRAN, HADI ALPHONSE (EG)；拉
多塞佛屈 米亞娜 RADOSEVICH, MIRYANA (FR)

(74)代理人：許世正

申請實體審查：有 申請專利範圍項數：12 項 圖式數：7 共 102 頁

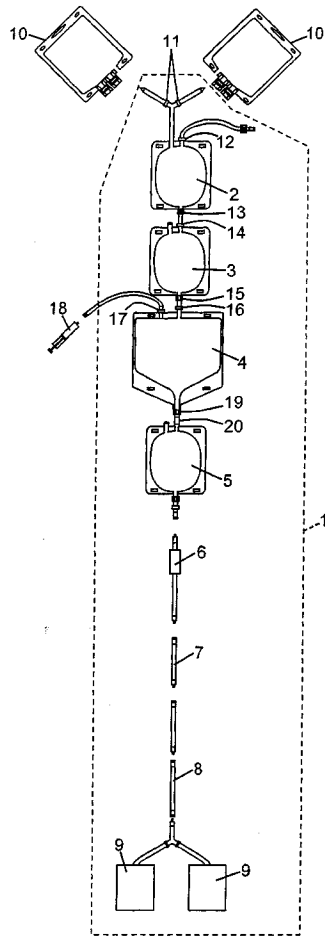
(54)名稱

病毒去活化之生物流體、生物流體之病毒去活化方法及其使用

VIRALLY-INACTIVATED BIOLOGICAL FLUID, VIRALLY INACTIVATING METHOD THEREOF
AND USE OF THE METHOD

(57)摘要

本發明係關於一種生物流體之病毒去活化方法，此方法藉由有機溶劑消毒處理生物流體，並接著以油脂萃取及過濾此生物流體。



- 1：袋內病毒去活化系統
- 2：第一病毒去活化袋
- 3：第二病毒去活化袋
- 4：漏斗形袋體
- 5：回收袋
- 6：輸血過濾器
- 7：活性碳過濾器
- 8：濾菌器
- 9：收集袋
- 10：儲存袋
- 11：第一病毒去活化袋之第一入口
- 12：第一病毒去活化袋之第二入口
- 13：第一病毒去活化袋之出口
- 14：第二病毒去活化袋之入口
- 15：第二病毒去活化袋之出口
- 16：漏斗形袋體之第一入口
- 17：漏斗形袋體之第二入口
- 18：注射器
- 19：漏斗形袋體之出口
- 20：回收袋之入口



(19)中華民國智慧財產局

(12)發明說明書公開本

(11)公開編號：TW 200942247 A1

(43)公開日：中華民國 98 (2009) 年 10 月 16 日

(21)申請案號：098110262

(22)申請日：中華民國 98 (2009) 年 03 月 27 日

(51)Int. Cl. : *A61K35/14 (2006.01)* *A61L2/02 (2006.01)*

(30)優先權：2008/03/28 美國 61/040,180

(71)申請人：藥品儀器研究基金會(瑞士) RESEARCH FOUNDATION FOR MEDICAL DEVICES
(CH)

瑞士

(72)發明人：班諾夫 希爾瑞 BURNOUF, THIERRY (FR)；艾拉奇亞比 瑪格蒂 EL-EKIABY,
MAGDY (EG)；高布倫 哈迪艾爾福斯 GOUBRAN, HADI ALPHONSE (EG)；拉
多塞佛屈 米亞娜 RADOSEVICH, MIRYANA (FR)

(74)代理人：許世正

申請實體審查：有 申請專利範圍項數：12 項 圖式數：7 共 102 頁

(54)名稱

病毒去活化之生物流體、生物流體之病毒去活化方法及其使用

VIRALLY-INACTIVATED BIOLOGICAL FLUID, VIRALLY INACTIVATING METHOD THEREOF
AND USE OF THE METHOD

(57)摘要

本發明係關於一種生物流體之病毒去活化方法，此方法藉由有機溶劑消毒處理生物流體，並接著以油脂萃取及過濾此生物流體。

六、發明說明：

【發明所屬之技術領域】

本發明係有關於一種病毒去活化的生物流體，特別是一種血漿及血漿產物。

【先前技術】

人類和動物之血漿及血漿成分(plasma fraction)在現代醫學中扮演一個重要的角色。這些血漿及血漿成分主要在出血事件、栓塞(thrombotic)事件、纖維蛋白溶解(fibrinolysis)、感染事件的處理上使用於輸血的目的，或是在確定的臨床表現上，於外科手術前使用於病患的預防或預處理。

在人類和動物之血漿及血漿成分的使用上，其主要缺點在於血液傳播病毒的傳染風險，例如人類免疫不全病毒(human immunodeficiency virus, HIV)、B型肝炎病毒(hepatitis B virus, HBV)、C型肝炎病毒(hepatitis C virus, HCV)、以及西尼羅病毒(West Nile virus)，或是可能的新興(emerging)病毒，例如登革熱病毒(Dengue virus)、屈公病毒(shikungunya virus)、嚴重急性呼吸道症候群(Severe Acute Respiratory Syndrome, SARS)、以及禽流感病毒(avian flu virus)，這些病毒皆為脂套膜病毒(lipid-enveloped virus)。病毒的風險同樣存在於來自重組的哺乳類細胞株以及基因轉殖動物所獲得的產物上。

因此，不同的生物去活化血漿及/或血漿成分及/或重組產物的方法已被發展出來，例如在可見光的照射下以甲基藍(methylene

blue)進行處理以及以有機溶劑消毒(solvent/detergent, S/D)法或有機溶劑單獨處理。美國公告第 4,481,189 號及第 4,540,573 號專利案中舉例說明使用有機溶劑消毒法(S/D method)或單獨使用有機溶劑，使包含或添加於血漿及血漿產物中的肝炎病毒或其他套膜類病毒(enveloped viruses)減少了十的數次方的感染力。

在試劑濃度、溫度及接觸時間的適當狀態下，有機溶劑消毒法或有機溶劑單獨的處理對敏感性血漿蛋白的分子形態及生物活性之影響微乎其微，並可有效地分解病毒，此病毒係具有與脂質相連結的外套膜蛋白質。

有機溶劑消毒法是目前在市場上大多數的血漿及生物技術產品(衍生自哺乳類細胞或哺乳動物的重組或基因轉殖產物)主要的病毒去活化處理方法，其中包含輸血用的血漿。其製程一般包含：培養蛋白質溶液 1 至 6 小時，此蛋白質溶液中具有相對蛋白質溶液 0.3 至 1 體積百分比(vol.%)的有機溶劑、磷酸三丁脂(tri(n-butyl)phosphate, TnBP)以及一種或多種的清潔劑、一般的吐溫乳化劑 80 (Tween 80)、聚乙二醇辛基苯基醚(Triton X-100)、吐溫乳化劑 20 (Tween 20)或去氧膽酸鈉(sodium deoxycholate)。血漿或血漿產物係於一相當大體積(100 至 5000 公升或更大)的液槽(large-pool)中處理，其需要龐大且昂貴的製藥設備。

此病毒去活化處理可保護各種凝血因子(coagulation factors)以及其他不穩定血漿蛋白質的功能活性，並具有出色的殺死致病性脂套膜血液感染病毒的功效。(Burnouf 及 Radosevich, 血液評論期

刊，西元 2000 年，第 14 期第 94-110 頁) (Burnouf and Radosevich, Blood Rev 2000, 14: 94-110)。

接著，在有機溶劑消毒法之後，將液槽中以有機溶劑消毒過之輸血用血漿進行疏水性交互作用層析(hydrophobic interaction chromatography)，以去除有機溶劑消毒試劑。然而，此疏水性交互作用層析之步驟含有昂貴的層析原料，相當大的緩衝液消耗量以及在每一批次後必須對設備進行清理及衛生處理，藉以重複使用設備，因此導致有機溶劑消毒試劑在移除上相當的昂貴及冗長。再者，由於設備的重複使用，使每一批次之間存在被黏附於設備表面的病毒及傳染性蛋白質(prion)污染的風險。

並且，將液槽中以有機溶劑消毒過之輸血用血漿與相對生物流體(biological fluid)重量之 1 體積百分比(vol.%)的磷酸三丁脂，以及相對生物流體重量之 1 重量百分比(wt%)之聚乙二醇辛基苯基醚(Triton X-100，聚氧乙烯(9-10) 對-第三辛基苯酚(polyoxyethylene (9-10) p-t-octyl phenol)；分子式為第三-辛基-苯-(氧乙基)x (t-Oct-C₆H₄-(OCH₂CH₂)_x)，x = 9-10，其中 x 為氧乙基之數量)進行培養、油脂萃取、離心、以及疏水性交互作用層析，例如 Horowitz B. 等人於西元 1992 年於血液期刊第 79 期 826 至 831 頁之說明，具有低功能活性的絲氨酸蛋白酶抑制劑(serine protease inhibitors, serpins)，如 α 2-抗血漿素(alpha 2-antiplasmin, 簡稱為 α 2-AP 或 SERPINF2)，或抗凝血劑，如 S 蛋白(Protein S)。

如上所述先前技術之缺點，須要一種使用有機溶劑消毒試劑

之病毒去活化方法，此方法毋須藉由疏水性交互作用層析法來達到令人滿意的有機溶劑消毒試劑之移除，並且具有高功能活性之絲氨酸蛋白酶抑制劑及/或 S 蛋白。

【發明內容】

在經過長期及透徹的研究之後，本案之發明人研究出令人驚訝地及非預期地結果，此結果係由一種生物流體之病毒去活化方法所達成，此生物流體之病毒去活化方法包含：

- (a) 以磷酸三丁脂(TnBP)與聚氧乙烯(4-5)-對-第三辛基苯酚(polyoxyethylene (4-5) p-t-octyl phenol)；分子式為第三-辛基-苯-(氧乙烯基) x 羥基， x 約為 5 ($t\text{-Oct-C}_6\text{H}_4\text{-(OCH}_2\text{CH}_2)_x\text{OH}$ ， $x \approx 5$ ；Triton X-45)之混合物對生物流體進行處理之步驟；
- (b) 一油脂萃取步驟，其中將含有磷酸三丁脂(TnBP)與聚氧乙烯(4-5)-對-第三辛基苯酚($t\text{-Oct-C}_6\text{H}_4\text{-(OCH}_2\text{CH}_2)_x\text{OH}$ ， $x \approx 5$) (Triton X-45)之生物流體，以 5 至 15 體積百分比(vol.%)之大豆油(soybean oil)進行處理，例如以 8 至 12 體積百分比(vol.%)，或 10 體積百分比(vol.%)之大豆油進行處理，用以將磷酸三丁脂(TnBP)與聚氧乙烯(4-5)-對-第三辛基苯酚($t\text{-Oct-C}_6\text{H}_4\text{-(OCH}_2\text{CH}_2)_x\text{OH}$ ， $x \approx 5$) (Triton X-45)轉移至大豆油中；
- (c) 將油脂萃取步驟後所回收的生物流體，藉由重力法通

過一活性碳過濾裝置；以及

(d) 將通過活性碳過濾裝置後所回收的生物流體，藉由重力法通過一濾菌器(bacterial filter)。

所提供之大豆油萃取步驟係為此方法中唯一的油脂萃取步驟。

所使用的磷酸三丁脂(TnBP)含量為相對生物流體之體積的 0.1 至 2 體積百分比(vol.)，例如 0.3 至 1.5 體積百分比(vol.)，0.5 至 1 體積百分比(vol.)，或 1 體積百分比(vol.)。

所使用的聚氧乙烯(4-5)-對-第三辛基苯酚(t-Oct-C₆H₄-(OCH₂CH₂)_xOH, x ≈ 5) (Triton X-45)含量，為相對生物流體之體積的 0.1 至 2 體積百分比(vol.)，例如 0.3 至 1.5 體積百分比(vol.)，0.5 至 1 體積百分比(vol.)，或 1 體積百分比(vol.)。

在本發明之一實施例中，磷酸三丁脂(TnBP)及聚氧乙烯(4-5)-對-第三辛基苯酚(t-Oct-C₆H₄-(OCH₂CH₂)_xOH, x ≈ 5) (Triton X-45)的含量皆為相對生物流體之體積的 1 體積百分比(vol.)。

依據本發明之生物流體，包含哺乳類血液、血漿、血清、血漿成分、來自血漿成分的沉澱物(precipitates)以及來自血漿成分的上清液(supernatants)、血小板稀少血漿(platelet poor plasma)、血小板濃厚血漿(platelet-rich plasma)、冷凍貧乏血漿(cryo-poor plasma)(血漿冷上清液(cryosupernatant))、重組及基因轉殖產物。當生物流體為血漿時，其包含回收血漿(recovered plasma)(來自於所有的血

液)以及分離術血漿(anpheresis plasma)、冷凍貧乏血漿、血漿成分，如用以純化下列物質之成分：凝血酶複合體(prothrombin complex)、第九凝血因子(Factor IX)、第七凝血因子(Factor VII)、C 蛋白(Protein C)、S 蛋白、抗凝血酶(antithrombin)、 α 2-抗血漿素(α 2-AP)、 α 1-抗胰蛋白酶(alpha 1-antitrypsin, α 1-AT)、胞漿素原活化因子抑制劑 1 (plasminogen activator inhibitor-1, PAI-1)、C1 抑制劑(C1-inhibitor)、來自血漿的沉澱物，如聚乙二醇(polyethylene glycol)、辛酸(caprylic acid)或硫酸銨(ammonium sulphate)沉澱物成分，以及其他相對應的上清液，或任何來自血漿分離、第一、第二及第三上清液所組成之上清液(supernatant I+II+III)、第一、第二及第三沉澱物所組成之沉澱物(precipitate I+II+III)、第二及第三上清液所組成之上清液(supernatant II+III)、第二及第三沉澱物所組成之沉澱物(precipitate II+III)、第一及第三上清液所組成之上清液(supernatant I+III)、第四上清液(supernatant IV)、第五沉澱物(precipitate V)或第二上清液(supernatant II)之沉澱物或上清液。血漿成分、沉澱物及上清液係從回收血漿及分離術血漿中獲得。

特別地，生物流體為分離術血漿、回收血漿、來自分離術血漿的冷凍沉澱品(cryoprecipitate)、來自回收血漿的冷凍沉澱品、以及(分離術的及回收的)冷凍貧乏血漿。

在有機溶劑消毒處理的步驟(a)之後，以大豆油進行一次萃取的效能，可使磷酸三丁脂(TnBP)的初始含量(10,000 百萬分率(ppm))降低為少於百分之 10 (10%)，意即約低於 1000 百萬分率，更甚至

於降低為少於初始磷酸三丁脂含量(10,000 百萬分率)的百分之 5，意即約低於 500 百萬分率，以及步驟(b)可使聚氧乙烯(4-5)-對-第三辛基苯酚(Triton X-45)的初始含量(10,000 百萬分率)降低為少於百分之 30，意即約低於 3,000 百萬分率，更甚至於降低為少於初始磷酸三丁脂含量的百分之 25，意即約低於 2,500 百萬分率。

並且，非常不可預期及令人意想不到地，依據本發明之生物流體的病毒去活化方法所獲得之病毒去活化的生物流體中，鄰苯二甲酸二(2-乙基己基)酯(di(2-ethylhexyl) phthalate, DEHP)的含量顯著地低於起始的生物流體。存在於起始的生物流體中之鄰苯二甲酸二(2-乙基己基)酯(DEHP)，係起因於一般生物流體(例如血漿、冷凍貧乏血漿或冷凍沉澱品)所使用之儲存袋，其材質中所含有的鄰苯二甲酸二(2-乙基己基)酯(DEHP)的擴散作用。生物流體(如血液及血液成分)之儲存或收集袋通常是由聚氯乙稀(polyvinylchloride, PVC)所製成。鄰苯二甲酸二(2-乙基己基)酯(DEHP)為一種非化學鍵結於聚氯乙稀聚合物之塑化劑，並且當聚氯乙稀醫學裝置接觸到流體時會溶出。當在特殊病患族群有可能的毒性之考量時，如新生兒、兒童、孕婦、或肝功能受損的病患，在須要生物流體時，特別是輸血時，生物流體所具有的鄰苯二甲酸二(2-乙基己基)酯(DEHP)含量儘可能的降至最低。不可預期且令人意想不到地，油脂萃取法及過濾法被發現用以降低鄰苯二甲酸二(2-乙基己基)酯(DEHP)，使鄰苯二甲酸二(2-乙基己基)酯(DEHP)的含量低於起始血漿，並少於已知的輸血用血漿及藉由其他方法

濃縮之血小板(請參見 Inoue, K.等人，臨床化學期刊，西元 2005 年，第 358 卷第 1-2 期：第 159 至 166 頁(Inoue, K. et al. Clin. Chem. Acta 2005; 358 (1-2): 159-66)；Cole RS 等人，血液之聲期刊，西元 1981 年，第 40 卷第 5 期：第 317 至 322 頁(Cole RS et al. Vox Sang 1981; 40 (5): 317-22); Loff S 等人，兒童外科期刊，西元 2000 年，第 35 卷第 12 期：第 1775 至 1781 頁(Loff S et al. J. Pediatr. Surg. 2000; 35 (12): 1775-81)；Buchta C 等人，輸血期刊，西元 2005 年，第 45 卷第 5 期：第 798 至 802 頁(Buchta C. et al. Transfusion 2005; 45 (5): 798-802))。

非常重要地，油脂萃取法是必須的，用以獲得清徹的/非渾濁的生物流體溶液，其可以過濾而不須額外添加處理程序(例如離心作用)，因此可達成過濾作用的直接效能。非常令人意想不到且不可預期地，清徹的/非渾濁的生物流體溶液僅在於當此生物流體之病毒去活化方法中，只包含單一次油脂萃取之步驟時方可獲得。過多的油脂萃取次數或使用其他的油進行萃取，例如蓖麻油(castor oil)，總是得到渾濁溶液，而無法藉由重力法通過活性碳過濾裝置進行過濾。

因此，在一實施例中，在油脂萃取步驟後的過濾步驟，係通過活性碳過濾裝置進行過濾，並以重力法完成。

活性碳過濾之步驟(步驟(c))可進一步降低磷酸三丁脂的含量為少於 10 百萬分率或無法測得的程度，降低聚氧乙烯(4-5)-對-第三辛基苯酚(Triton X-45)的含量為少於 50 百萬分率，或甚至於少

於 10 百萬分率，移除仍存在於生物流體溶液中的油滴，此油滴是由於油脂萃取過程中進行混合時所產生。並藉由移除細胞碎片(cell debris)、微小凝聚物、殘留脂質來進一步淨化生物流體溶液，因此增加後續濾菌器的產能，並藉由使用吸附式過濾器進行過濾作用及/或奈米過濾作用(nanofiltration)，使濾菌器可更加快速的完成病毒/傳染性蛋白質的移除步驟(例如移除無外套膜病毒(non-enveloped viruses))。吸附式過濾器例如為 Cuno Zeta Plus 病毒過濾器，或具有孔隙尺寸之範圍為 15 至 75 奈米(nm)之過濾器，或類似的過濾器，例如 Pall 公司的 DV 過濾器、Millipore 公司的 Viresolve 過濾器或 Asahi 公司的 Planova 過濾器系列。

在一實施例中，小量混合(small pools)的生物流體，即約少於 500 毫升的生物流體，但並不以此為限，其過濾時所使用的活性碳過濾器，例如由 Pall 公司所商業化的 Pall Supracap 60 過濾膜系列，如 AKS6、AKS7、AKS4 以及 AKS1，以及由 Cuno 公司所商業化的 Cuno Zeta Plus Zetacarbon 系列的 BIOCAP 30 – R32SP、BIOCAP 30 – R33SP、BIOCAP 30 – R34SP、BIOCAP 30 R35SP，以及最新引進的 BIOCAP 25 R32SP、BIOCAP 30 – R33SP、BIOCAP 30 – R34SP 以及 BIOCAP 25 R35SP。

在本發明之一實施例中，濾菌器含有約 0.2 微米(μm)孔隙尺寸。當使用具有漸層的孔隙度之濾菌器，例如具有 0.65 微米至 0.2 微米孔隙度的濾菌器，相對的在細菌過濾(bacterial filtration)之步驟(步驟(d))的產能上可獲得良好的結果。這種漸層式孔隙度確保物

質在逐漸縮小孔隙度之纖維上漸進式的過濾。在一實施例中，少量混合的生物流體的過濾作用，即少於 1.5 公升的生物流體，其所使用的濾菌器為經由 Pall 公司所商業化的 Capsule Mini Kleenpak™ EKV (序號 KM5EKVP2S) 濾菌器。

在一實施例中，在步驟(d)中之細菌過濾係藉由重力法完成。

假設在處理過程中發生偶發性的細菌污染，由於細菌的過濾作用可確保生物流體的細菌安全性。此外，在滅菌之處理過程中避免使用各種的化學藥品，例如磷酸三丁脂(TnBP)、聚氧乙烯(4-5)-對-第三辛基苯酚(Triton X-45)、或大豆油，其可節省時間及成本，並使此生物流體之病毒去活化方法可應用於滅菌設備無法立即使用的環境中。

當生物流體為血漿、冷凍沉澱品、或冷凍貧乏血漿時，細菌過濾進一步確保在血液/血漿收集時所引進之血液傳染細菌的移除(例如起因於供血者的手臂不正確的清潔所引進之血液傳染細菌)，以及無法以有機溶劑消毒法消滅之血液傳染細菌的移除。再者，細菌過濾增加了血漿/冷凍沉澱品/冷凍貧乏血漿溶液對於血液寄生蟲的安全裕度(血液寄生蟲例如為引起巴貝氏蟲症(Babesiosis)之巴貝氏蟲(*Babesia microti*)；引起瘧疾(malaria)之變形蟲(*Plasmodium*)；引起萊什曼原蟲病(Leishmaniosis)之萊什曼原蟲(*Leishmania*)；引起查加斯氏病(Chagas disease)之克魯斯氏錐蟲(*Trypanosoma cruzi*)，特別是在假設以非常新鮮及尚未冷凍的血漿做為起始物質的使用，以及這些血液寄生蟲未被預期不會被有機

溶劑消毒法所消滅。於 0.2 微米薄膜上進行細菌過濾，同時可移除血液細胞碎片，因此使起因於殘餘淋巴細胞或細胞凝聚物之免疫輸血反應的風險降低。

並且，本發明所揭示之內容，為首次建立以輸血用之血漿或其他血漿成分，例如經由血液製造的冷凍沉澱品或冷凍貧乏血漿，通過 0.2 微米過濾器進行過濾是可行的。通過具有 0.2 微米孔隙尺寸之過濾器進行過濾所具有之優點為，其產物中沒有任何的血液細胞(白血球、血小板、紅血球)及細胞碎片，此外不具有細菌及寄生蟲。完全的移除血液細胞及細胞碎片可同時促成輸血用血漿或其他血漿成分，如冷凍沉澱品或冷凍貧乏血漿之安全性的改善，由於白血球相關病原菌，如巨細胞病毒(cytomegalovirus)、艾伯斯坦-巴爾病毒(Epstein-Barr virus)或傳染性蛋白質的移除或減少。與本發明相反的，普通單一供血者血漿經過無菌處理並含有相當程度的血液細胞；去白細胞(leucoreduced)之單一供血者血漿包含低含量的白血球，但仍含有血小板；病毒去活化血漿單位，如單一供血者甲基藍血漿或補骨脂素血漿(psoralen plasma)分別通過甲基藍或補骨脂素吸附過濾器，但仍含有血液細胞或血液細胞碎片。

另外，依據本發明所獲得之血漿及冷凍貧乏血漿，使脂質的含量減少，而降低輸血相關急性肺損傷(Transfusion related acute lung injury；TRALI)的風險。

最後，當百分之 20 至 30 的流失發生於以甲基藍、補骨脂素

及核黃素(riboflavin)處理的血漿時，依據本發明所獲得之血漿及冷凍貧乏血漿，顯示出良好的第八凝血因子(FVIII)及凝血纖維蛋白原(clottable fibrinogen)含量的保存。

總之，本發明之生物流體之病毒去活化方法在血漿、冷凍貧乏血漿及冷凍沉澱品的製備上，可達到(a)病毒去活化，(b)第八凝血因子及凝血纖維蛋白原的良好保存，(c)實質上不具有脂質，(d)實質上不具有血液細胞及細胞碎片，以及(e)所具有之鄰苯二甲酸二(2-乙基己基)酯(DEHP)含量低於起始之血漿、冷凍貧乏血漿或冷凍沉澱品。

在一實施例中，本發明之生物流體之病毒去活化方法，在步驟(c)之前，包含一回收生物流體之步驟，其係於步驟(B)之後將生物流體藉由重力法通過一輸血過濾器(transfusion filter)進行回收。此一外加的過濾步驟不會影響生物流體的濁度，但會移除可見的凝塊(visible clots)，這些凝塊可能潛在於隨後要進行油脂萃取之生物流體中，並做為安全性的檢測。此一過濾步驟係以重力法完成。

本發明之生物流體之病毒去活化方法，可應用於大量混合的有機溶劑消毒處理之生物流體的工業製程上，例如血漿及血漿成分，如同於微量混合(minipool) (MD-SD)之製造程序。有機溶劑消毒法於微量混合的生物流體之應用，例如血漿及血漿產物(MP/SD)，係將少量的血漿於密閉袋系統(closed bag system)中進行處理，其被描述於國際專利(WO)申請號第 2006/082115 號中，在此做為參考文獻的引用。

關於袋內病毒去活化系統(in-bag viral inactivation system)，本發明之生物流體之病毒去活化方法特別引人注意之處在於以重力法完成過濾作用，不需使用特殊的設備，例如蠕動泵(peristaltic pump)。因此使本發明之生物流體之病毒去活化方法變得容易使用且便宜。拋棄式過濾器的使用，令生物流體之病毒去活化方法特別相容於袋內病毒去活化系統，因為袋內病毒去活化系統中所有的袋子及過濾器於使用後可直接地丟棄。

如「第 1 圖」所示之袋內病毒去活化系統 1，為袋內病毒去活化系統之其中之一種個別的形態，係用以依據本發明之生物流體之病毒去活化方法來處理微量混合的血漿(或冷凍貧乏血漿)。此袋內病毒去活化系統 1 包含：一第一病毒去活化袋 2、一第二病毒去活化袋 3、一漏斗形袋體 4、一回收袋 5、一輸血過濾器 6、一活性碳過濾器 7、一濾菌器 8 以及二收集袋 9，用以回收病毒去活化及純化的血漿或冷凍貧乏血漿。在一實施例中，袋內病毒去活化系統 1 未包含輸血過濾器 6。此袋內病毒去活化系統 1 在濾菌器 8 及收集袋 9 之間可同時包含一另外的收集袋，用以在病毒去活化及純化的血漿分送至收集袋 9 前混合這些病毒去活化及純化的血漿。

在一實施例中，病毒去活化袋為橢圓形或圓形的形式，用以促進成分的混合並避免死點(dead point)的存在，此死點為血漿原料不會與有機溶劑消毒試劑相接觸的位置。

用以回收病毒去活化及純化的血漿或冷凍貧乏血漿之第一病

毒去活化袋 2、第二病毒去活化袋 3、漏斗形袋體 4、回收袋 5、輸血過濾器 6、活性碳過濾器 7、濾菌器 8 及收集袋 9，係以血液及血液產物輸血領域中所使用的元件聯接方式，彼此相互線性連接。

經處理之血漿或冷凍貧乏血漿直接地從一個或多個收集袋或儲存袋 10 傳輸至第一病毒去活化袋之第一入口 11。然後將操作助劑(process chemicals)(聚氧乙烯(4-5)-對-第三辛基苯酚(Triton X-45)及磷酸三丁脂(TnBP))，由第一病毒去活化袋之第二入口 12 添加入第一病毒去活化袋中，例如藉由注射器(syringe)來添加。此注射器係直接或藉由管子連接於第一病毒去活化袋之第二入口。

在第一病毒去活化袋 2 中之第一次培養後，含有 v 的血漿或冷凍貧乏血漿經由第一病毒去活化袋之出口 13 及第二病毒去活化袋之入口 14，傳輸至第二病毒去活化袋 3，以進行第二次培養。

在第二次培養之步驟終止後，含有操作助劑的血漿或冷凍貧乏血漿經由第二病毒去活化袋之出口 15 及漏斗形袋體之第一入口 16，傳輸至漏斗形袋體 4，以進行油脂萃取。

經由漏斗形袋體之第二入口 17 添加用以進行油脂萃取之大豆油，例如藉由注射器 18 添加。注射器 18 係直接或藉由管子連接於漏斗形袋體之第二入口 17。

在油脂萃取步驟的過程中，含有操作助劑的血漿或冷凍貧乏血漿，以及大豆油先均勻的混合，然後藉由重力法進行相分離。

在以重力法進行相分離之程序結束之後，獲得低相位的血漿

或冷凍貧乏血漿以及高相位的大豆油。然後將低相位的血漿或冷凍貧乏血漿，經由漏斗形袋體之出口 19 和回收袋之入口 20，傳輸至回收袋 5。

然後將回收的血漿或冷凍貧乏血漿依序地通過輸血過濾器 6 (若具有輸血過濾器)、活性碳過濾器 7 及濾菌器 8。

如「第 2 圖」所示之袋內病毒去活化系統 1a，為袋內病毒去活化系統之其中之一種個別的形態，係用以依據本發明之生物流體之病毒去活化方法來處理微量混合的冷凍沉澱品。袋內病毒去活化系統 1a 與「第 1 圖」所示之袋內病毒去活化系統之差異，在於此袋內病毒去活化系統 1a 在濾菌器 8 與收集袋 9 之間進一步包含一另外的收集袋 21，用以混合經處理過之冷凍沉澱品並在分送前得到均勻溶液。在另一實施例中，此袋內病毒去活化系統不包含輸血過濾器。

如「第 2 圖」所示，在冷凍沉澱品之病毒去活化的袋內病毒去活化系統 1a 中，30 至 50 單位(unit) (每單位約為 10 毫升)之冷凍沉澱品直接從儲存袋輸送至第一病毒去活化袋之第一入口 11。

後續的步驟與血漿或冷凍貧乏血漿之病毒去活化步驟相同。

當大量混合的有機溶劑消毒處理之生物流體應用於工業製程時，尤其是血漿及血漿製品，例如免疫球蛋白 G (immunoglobulins G)，本發明所述之生產流程可以多種方式來改善產量及簡化製程。首先，在工業規模中用以移除有機溶劑消毒試劑之昂貴的疏水性交互作用之步驟(通常為碳 18 (C18)或 SDR-hyper D 型號之管

柱的填充材料)，以單次使用的活性碳過濾器代替。此避開了(重複使用的)層析材料之確認、清理及衛生清潔的要求，以及減少/避免緩衝液的消耗，使製程變得便宜及迅速、並且毋需擔心批次與批次之間被黏附於層析設備表面的病毒及傳染性蛋白質污染。再者，所使用之聚氧乙烯(4-5)-對-第三辛基苯酚(Triton X-45)，係於大豆油脂萃取後為獲得清澈物質所必需使用者，聚氧乙烯(4-5)-對-第三辛基苯酚(Triton X-45)提供高品質的血漿，此血漿具有良好含量的 α 2-抗血漿素(α 2-AP)、 α 1-抗胰蛋白酶(α 1-AT)、S 蛋白(Protein S)及其他的蛋白酶抑制劑或抗凝血劑。

本發明另揭露一種病毒去活化的生物流體，其係選自血漿、冷凍貧乏血漿以及冷凍沉澱品所組成之群組，其中生物流體實質上不具有脂質、血液細胞及細胞碎片。生物流體，如血漿及冷凍沉澱品，具有良好的第八凝血因子(FVIII)及凝血纖維蛋白原含量保存之優點。

缺乏脂質、血液細胞及細胞碎片之生物流體，可顯著的降低免疫輸血反應的風險，例如起因於殘餘脂質、或淋巴細胞、或細胞凝聚物的輸血相關急性肺損傷(TRALI)。同時可降低來自於血液細胞或血液細胞膜病原菌的風險。

為了更充分揭露本發明之本質與實現本發明之本質的方法，茲以下列未限定之實施例做為舉例說明。雖然所有的實施例包括微量混合(mini-pools)以及於密閉袋系統中完成，必需瞭解的是本發明之生物流體之病毒去活化方法可輕易的放大規模，尤其是有

關於通過活性碳及濾菌器進行過濾。使用大規模的過濾器在商業上是可行的。

【實施方式】

所有的實施例中，其百分比係為體積百分比，除非另有具體指定。

第一實施例

分離術血漿(apheresis plasma)，以百分之 1 磷酸三丁酯(TnBP)及百分之 1 聚氧乙烯(4-5)-對-第三辛基苯酚(Triton X-45) (序號 93419, Fluka, Sigma Aldrich 公司製造)處理，並以大豆油(序號 S7381, Sigma 公司製造)進行一次的油脂萃取。

依循製造商的操作指南下，以分離術程序收集 2 血漿單位，並且以抗凝血酸檸檬酸葡萄糖(acid-citrate-dextrose anticoagulant, ACDA) (比例為每 100 毫升血液中含有 8 毫升)抗凝此 2 血漿單位。血漿在進行處理程序之前並未去白細胞(leucoreduced)。將血漿冷凍於乾冰酒精浴(dry ice ethanol bath)中，並於攝氏溫度負 30 度(-30 °C)之冰箱中，最多儲存 3 個月。

將 2 捐獻來源的血漿放置於溫度控制水浴槽中，以攝氏溫度 35 度加熱 10 分鐘進行融解。然後混合於第一病毒去活化袋(第一有機溶劑消毒處理袋)中。混合的血漿之體積為 400 毫升。

將 8 毫升的百分之 50/百分之 50 的磷酸三丁酯(TnBP) (Prolabo, VWR 公司製造, Fontenay-sous-bois 地區, 法國)及聚氧乙烯(4-5)-對-第三辛基苯酚(Triton X-45) (序號 93419, Fluka, Sigma

Aldrich 公司製造)混合物，謹慎地加入 400 毫升的血漿中，以達到最終濃度為相對血漿重量百分之 1 的磷酸三丁酯(TnBP)及百分之 1 的聚氧乙烯(4-5)-對-第三辛基苯酚(Triton X-45)。

將血漿/磷酸三丁酯(TnBP)/聚氧乙烯(4-5)-對-第三辛基苯酚(Triton X-45)混合物劇烈地振盪 5 分鐘，以確保不同成分間的充分混合。將經過此程序之第一病毒去活化袋置入振盪培養箱中，於攝氏溫度 31 度進行培養，並且穩定的溫和搖動(每分鐘轉速 150 轉(150 rpm))30 分鐘進行處理。接著將血漿/磷酸三丁酯(TnBP)/聚氧乙烯(4-5)-對-第三辛基苯酚(Triton X-45)混合物傳輸至第二病毒去活化袋(第二有機溶劑消毒處理袋)，並於相同的狀態下培養 1 小時 30 分鐘。

然後將血漿/磷酸三丁酯(TnBP)/聚氧乙烯(4-5)-對-第三辛基苯酚(Triton X-45)混合物傳輸至漏斗形袋體(油脂萃取袋)中。加入 40 毫升的大豆油(序號 S7381，Sigma 公司製造)至血漿/磷酸三丁酯(TnBP)/聚氧乙烯(4-5)-對-第三辛基苯酚(Triton X-45)混合物中。將血漿/磷酸三丁酯(TnBP)/聚氧乙烯(4-5)-對-第三辛基苯酚(Triton X-45)/百分之 10 大豆油所組成之懸浮液劇烈地振盪至少 1 分鐘，接著放置於振盪培養箱，以確保溫和的搖動至少 15 分鐘。然後將此漏斗形袋體懸置 45 分鐘，以確保油相(上層)及血漿相(下層)的傾析(decantation)。

回收清澈的血漿相。超過 370 毫升的血漿通過一注入液過濾器(infusion filter)，使血漿藉由重力法(不需藉由泵浦提供壓力)通過

Pall 公司所製造之 AKS6 Pall 活性碳過濾器(型號 SUPRAcap 60 SC060XAK6),其係續接於一 0.2 微米濾菌器(型號 Mini Kleenpak™ 20, 序號 KM5EKVP2S)。

結論：結合百分之 1 磷酸三丁酯(TnBP)及百分之 1 聚氧乙烯(4-5)-對-第三辛基苯酚(Triton X-45)的使用，並藉由大豆油進行一次的萃取，可獲得超過 350 毫升的清澈血漿，此清澈血漿可藉由重力法通過活性碳過濾器及濾菌器進行過濾，以排除有機溶劑消毒試劑、殘留之大豆油、血液細胞碎片、細菌及寄生蟲。

第二實施例

分離術血漿(apheresis plasma)，以百分之 1 磷酸三丁酯(TnBP)及百分之 1 聚氧乙烯(4-5)-對-第三辛基苯酚(Triton X-45) (序號 93419, Fluka, Sigma Aldrich 公司製造)處理，並以大豆油(序號 85471, 來自大豆(Glycine max), Sigma 公司製造)進行一次的油脂萃取。

依循製造商的操作指南下，以分離術程序收集 2 血漿單位，並且以抗凝血酸檸檬酸葡萄糖(acid-citrate-dextrose anticoagulant, ACDA) (比例為每 100 毫升血液中含有 8 毫升)抗凝此 2 血漿單位。血漿在進行處理程序之前並未去白細胞(leucoreduced)。將血漿冷凍於乾冰酒精浴(dry ice ethanol bath)中，並於攝氏溫度負 30 度(-30 °C)之冰箱中，最多儲存 3 個月。

將 2 捐獻來源的血漿放置於溫度控制水浴槽中，以攝氏溫度 35 度加熱 10 分鐘進行融解。然後混合於第一病毒去活化袋(第一

有機溶劑消毒處理袋)中。混合的血漿之體積為 400 毫升。

將 8 毫升的百分之 50/百分之 50 的磷酸三丁酯(TnBP) (Prolabo, VWR 公司製造, Fontenay-sous-bois 地區, 法國)及聚氧乙烯(4-5)-對-第三辛基苯酚(Triton X-45) (序號 93419, Fluka, Sigma Aldrich 公司製造)混合物, 謹慎地加入 400 毫升的血漿中, 以達到最終濃度為百分之 1 的磷酸三丁酯(TnBP)及百分之 1 的聚氧乙烯(4-5)-對-第三辛基苯酚(Triton X-45)。

將血漿/磷酸三丁酯(TnBP)/聚氧乙烯(4-5)-對-第三辛基苯酚(Triton X-45)混合物劇烈地振盪 5 分鐘, 以確保不同成分間的充分混合。將經過此程序之第一病毒去活化袋置入振盪培養箱中, 於攝氏溫度 31 度進行培養, 並且穩定的溫和搖動(每分鐘轉速 150 轉(150 rpm))30 分鐘進行處理。接著將血漿/磷酸三丁酯(TnBP)/聚氧乙烯(4-5)-對-第三辛基苯酚(Triton X-45)混合物傳輸至第二病毒去活化袋(第二有機溶劑消毒處理袋), 並於相同的狀態下培養 1 小時 30 分鐘。

然後將血漿/磷酸三丁酯(TnBP)/聚氧乙烯(4-5)-對-第三辛基苯酚(Triton X-45)混合物傳輸至漏斗形袋體(油脂萃取袋)中。加入 40 毫升的大豆油(序號 85471, 來自大豆(Glycine max), Sigma 公司製造)至血漿/磷酸三丁酯(TnBP)/聚氧乙烯(4-5)-對-第三辛基苯酚(Triton X-45)混合物中。將血漿/磷酸三丁酯(TnBP)/聚氧乙烯(4-5)-對-第三辛基苯酚(Triton X-45)/百分之 10 大豆油所組成之懸浮液劇烈地振盪至少 1 分鐘, 接著放置於振盪培養箱, 以確保溫和的搖

動至少 15 分鐘。然後將此漏斗形袋體懸置 45 分鐘，以確保油相(上層)及血漿相(下層)的傾析(decantation)。

回收清澈的血漿相。超過 370 毫升的血漿通過一注入液過濾器(infusion filter)，使血漿藉由重力法(不需藉由泵浦提供壓力)通過 Pall 公司所製造之 AKS6 Pall 活性碳過濾器(型號 SUPRAcap 60 SC060XAK6)，其係續接於一 0.2 微米濾菌器(型號 Mini Kleenpak™ 20，序號 KM5EKVP2S)。

結論：結合百分之 1 磷酸三丁酯(TnBP)及百分之 1 聚氧乙烯(4-5)-對-第三辛基苯酚(Triton X-45)的使用，並藉由大豆油進行一次的萃取，可獲得超過 350 毫升的清澈血漿，此清澈血漿可藉由重力法通過活性碳過濾器及濾菌器進行過濾，以排除有機溶劑消毒試劑、殘留之大豆油、血液細胞碎片、細菌及寄生蟲。

第三實施例

分離術血漿(apheresis plasma)，以百分之 1 磷酸三丁酯(TnBP)及百分之 1 聚氧乙烯(4-5)-對-第三辛基苯酚(Triton X-45) (序號 93419，Fluka，Sigma Aldrich 公司製造)處理，並以大豆油(序號 19-42500，Penta 公司製造)進行一次的油脂萃取。

依循製造商的操作指南下，以分離術程序收集 2 血漿單位，並且以抗凝血酸檸檬酸葡萄糖(acid-citrate-dextrose anticoagulant，ACDA) (比例為每 100 毫升血液中含有 8 毫升)抗凝此 2 血漿單位。血漿在進行處理程序之前並未去白細胞(leucoreduced)。將血漿冷凍於乾冰酒精浴(dry ice ethanol bath)中，並於攝氏溫度負 30 度(-30

°C)之冰箱中，最多儲存 3 個月。

將 2 捐獻來源的血漿放置於溫度控制水浴槽中，以攝氏溫度 35 度加熱 10 分鐘進行融解。然後混合於第一病毒去活化袋(第一有機溶劑消毒處理袋)中。混合的血漿之體積為 400 毫升。

將 8 毫升的百分之 50/百分之 50 的磷酸三丁酯(TnBP) (Prolabo, VWR 公司製造, Fontenay-sous-bois 地區, 法國)及聚氧乙烯(4-5)-對-第三辛基苯酚(Triton X-45) (序號 93419, Fluka, Sigma Aldrich 公司製造)混合物, 謹慎地加入 400 毫升的血漿中, 以達到最終濃度為百分之 1 的磷酸三丁酯(TnBP)及百分之 1 的聚氧乙烯(4-5)-對-第三辛基苯酚(Triton X-45)。

將血漿/磷酸三丁酯(TnBP)/聚氧乙烯(4-5)-對-第三辛基苯酚(Triton X-45)混合物劇烈地振盪 5 分鐘, 以確保不同成分間的充分混合。將經過此程序之第一病毒去活化袋置入振盪培養箱中, 於攝氏溫度 31 度進行培養, 並且穩定的溫和搖動(每分鐘轉速 150 轉(150 rpm))30 分鐘進行處理。接著將血漿/磷酸三丁酯(TnBP)/聚氧乙烯(4-5)-對-第三辛基苯酚(Triton X-45)混合物傳輸至第二病毒去活化袋(第二有機溶劑消毒處理袋), 並於相同的狀態下培養 1 小時 30 分鐘。

然後將血漿/磷酸三丁酯(TnBP)/聚氧乙烯(4-5)-對-第三辛基苯酚(Triton X-45)混合物傳輸至漏斗形袋體(油脂萃取袋)中。加入 40 毫升的大豆油(序號 19-42500, Penta 公司製造)至血漿/磷酸三丁酯(TnBP)/聚氧乙烯(4-5)-對-第三辛基苯酚(Triton X-45)混合物中。將

血漿/磷酸三丁酯(TnBP)/聚氧乙烯(4-5)-對-第三辛基苯酚(Triton X-45)/百分之 10 大豆油所組成之懸浮液劇烈地振盪至少 1 分鐘，接著放置於振盪培養箱，以確保溫和的搖動至少 15 分鐘。然後將此漏斗形袋體懸置 45 分鐘，以確保油相(上層)及血漿相(下層)的傾析(decantation)。

回收清澈的血漿相。超過 370 毫升的血漿通過一注入液過濾器(infusion filter)，使血漿藉由重力法(不需藉由泵浦提供壓力)通過 Pall 公司所製造之 AKS6 Pall 活性碳過濾器(型號 SUPRAcap 60 SC060XAK6)，其係續接於一 0.2 微米濾菌器(型號 Mini Kleenpak™ 20，序號 KM5EKVP2S)。

結論：結合百分之 1 磷酸三丁酯(TnBP)及百分之 1 聚氧乙烯(4-5)-對-第三辛基苯酚(Triton X-45)的使用，並藉由大豆油進行一次的萃取，可獲得超過 350 毫升的清澈血漿，此清澈血漿可藉由重力法通過活性碳過濾器及濾菌器進行過濾，以排除有機溶劑消毒試劑、殘留之大豆油、血液細胞碎片、細菌及寄生蟲。

第四實施例

分離術血漿(apheresis plasma)，以百分之 1 磷酸三丁酯(TnBP)及百分之 1 聚氧乙烯(4-5)-對-第三辛基苯酚(Triton X-45) (序號 93419，Fluka，Sigma Aldrich 公司製造)處理，並以大豆油(序號 S7381，Sigma 公司製造)進行兩次的油脂萃取。

依循製造商的操作指南下，以分離術程序收集 2 血漿單位，並且以抗凝血酸檸檬酸葡萄糖(acid-citrate-dextrose anticoagulant，

ACDA) (比例為每 100 毫升血液中含有 8 毫升)抗凝此 2 血漿單位。血漿在進行處理程序之前並未去白細胞(leucoreduced)。將血漿冷凍於乾冰酒精浴(dry ice ethanol bath)中，並於攝氏溫度負 30 度(-30 °C)之冰箱中，最多儲存 3 個月。

將 2 捐獻來源的血漿放置於溫度控制水浴槽中，以攝氏溫度 35 度加熱 10 分鐘進行融解。然後混合於第一病毒去活化袋(第一有機溶劑消毒處理袋)中。混合的血漿之體積為 400 毫升。

將 8 毫升的百分之 50/百分之 50 的磷酸三丁酯(TnBP) (Prolabo, VWR 公司製造, Fontenay-sous-bois 地區, 法國)及聚氧乙烯(4-5)-對-第三辛基苯酚(Triton X-45) (序號 93419, Fluka, Sigma Aldrich 公司製造)混合物，謹慎地加入 400 毫升的血漿中，以達到最終濃度為相對血漿重量百分之 1 的磷酸三丁酯(TnBP)及百分之 1 的聚氧乙烯(4-5)-對-第三辛基苯酚(Triton X-45)。

將血漿/磷酸三丁酯(TnBP)/聚氧乙烯(4-5)-對-第三辛基苯酚(Triton X-45)混合物劇烈地振盪 5 分鐘，以確保不同成分間的充分混合。將經過此程序之第一病毒去活化袋置入振盪培養箱中，於攝氏溫度 31 度進行培養，並且穩定的溫和搖動(每分鐘轉速 150 轉(150 rpm))30 分鐘進行處理。接著將血漿/磷酸三丁酯(TnBP)/聚氧乙烯(4-5)-對-第三辛基苯酚(Triton X-45)混合物傳輸至第二病毒去活化袋(第二有機溶劑消毒處理袋)，並於相同的狀態下培養 1 小時 30 分鐘。

然後將血漿/磷酸三丁酯(TnBP)/聚氧乙烯(4-5)-對-第三辛基苯

酚(Triton X-45)混合物傳輸至漏斗形袋體(油脂萃取袋)中。加入 40 毫升的大豆油(序號 S7381, Sigma 公司製造)至血漿/磷酸三丁酯(TnBP)/聚氧乙烯(4-5)-對-第三辛基苯酚(Triton X-45)混合物中。將血漿/磷酸三丁酯(TnBP)/聚氧乙烯(4-5)-對-第三辛基苯酚(Triton X-45)/百分之 10 大豆油所組成之懸浮液劇烈地振盪至少 1 分鐘, 接著放置於振盪培養箱, 以確保溫和的搖動至少 15 分鐘。然後將此漏斗形袋體懸置 45 分鐘, 以確保油相(上層)及血漿相(下層)的傾析(decantation)。

回收血漿相, 並重複一次油脂萃取處理程序, 得到約 360 毫升的血漿產量(兩次的大豆油脂萃取後之總量)。

回收到非常混濁的血漿相, 並通過一注入液過濾器(infusion filter)。僅有約 30 毫升的血漿藉由重力法(不需藉由泵浦提供壓力)通過 Pall 公司所製造之 AKS6 Pall 活性碳過濾器(型號 SUPRAcap 60 SC060XAK6), 且過濾器產生阻塞而停止過濾程序。

結論: 結合百分之 1 磷酸三丁酯(TnBP)及百分之 1 聚氧乙烯(4-5)-對-第三辛基苯酚(Triton X-45)的使用, 並藉由大豆油進行兩次萃取所產出的血漿非常的混濁, 此混濁的血漿為無法藉由重力法通過活性碳過濾器及濾菌器進行過濾。

第五實施例

分離術血漿(apheresis plasma), 以百分之 1 磷酸三丁酯(TnBP)及百分之 1 聚氧乙烯(4-5)-對-第三辛基苯酚(Triton X-45) (序號 93419, Fluka, Sigma Aldrich 公司製造)處理, 並以大豆油(序號

S7381，Sigma 公司製造)進行三次的油脂萃取。

依循製造商的操作指南下，以分離術程序收集 2 血漿單位，並且以抗凝血酸檸檬酸葡萄糖(acid-citrate-dextrose anticoagulant, ACDA) (比例為每 100 毫升血液中含有 8 毫升)抗凝此 2 血漿單位。血漿在進行處理程序之前並未去白細胞(leucoreduced)。將血漿冷凍於乾冰酒精浴(dry ice ethanol bath)中，並於攝氏溫度負 30 度(-30 °C)之冰箱中，最多儲存 3 個月。

將 2 捐獻來源的血漿放置於溫度控制水浴槽中，以攝氏溫度 35 度加熱 10 分鐘進行融解。然後混合於第一病毒去活化袋(第一有機溶劑消毒處理袋)中。混合的血漿之體積為 400 毫升。

將 8 毫升的百分之 50/百分之 50 的磷酸三丁酯(TnBP) (Prolabo, VWR 公司製造, Fontenay-sous-bois 地區, 法國)及聚氧乙烯(4-5)-對-第三辛基苯酚(Triton X-45) (序號 93419, Fluka, Sigma Aldrich 公司製造)混合物，謹慎地加入 400 毫升的血漿中，以達到最終濃度為相對血漿重量百分之 1 的磷酸三丁酯(TnBP)及百分之 1 的聚氧乙烯(4-5)-對-第三辛基苯酚(Triton X-45)。

將血漿/磷酸三丁酯(TnBP)/聚氧乙烯(4-5)-對-第三辛基苯酚(Triton X-45)混合物劇烈地振盪 5 分鐘，以確保不同成分間的充分混合。將經過此程序之第一病毒去活化袋置入振盪培養箱中，於攝氏溫度 31 度進行培養，並且穩定的溫和搖動(每分鐘轉速 150 轉(150 rpm))30 分鐘進行處理。接著將血漿/磷酸三丁酯(TnBP)/聚氧乙烯(4-5)-對-第三辛基苯酚(Triton X-45)混合物傳輸至第二病毒

去活化袋(第二有機溶劑消毒處理袋)，並於相同的狀態下培養 1 小時 30 分鐘。

然後將血漿/磷酸三丁酯(TnBP)/聚氧乙烯(4-5)-對-第三辛基苯酚(Triton X-45)混合物傳輸至漏斗形袋體(油脂萃取袋)中。加入 40 毫升的大豆油(序號 S7381，Sigma 公司製造)至血漿/磷酸三丁酯(TnBP)/聚氧乙烯(4-5)-對-第三辛基苯酚(Triton X-45)混合物中。將血漿/磷酸三丁酯(TnBP)/聚氧乙烯(4-5)-對-第三辛基苯酚(Triton X-45)/百分之 10 大豆油所組成之懸浮液劇烈地振盪至少 1 分鐘，接著放置於振盪培養箱，以確保溫和的搖動至少 15 分鐘。然後將此漏斗形袋體懸置 45 分鐘，以確保油相(上層)及血漿相(下層)的傾析(decantation)。

回收血漿相，並重複兩次大豆油脂萃取處理程序，得到約 350 毫升的血漿產量。

回收到輕微混濁的血漿相。將 350 毫升的血漿通過一注入液過濾器(infusion filter)。僅有約 80 毫升的血漿藉由重力法(不需藉由泵浦提供壓力)通過 Pall 公司所製造之 AKS6 Pall 活性碳過濾器(型號 SUPRAcap 60 SC060XAK6)進行過濾，且過濾器產生阻塞而停止過濾程序。

結論：結合百分之 1 磷酸三丁酯(TnBP)及百分之 1 聚氧乙烯(4-5)-對-第三辛基苯酚(Triton X-45)的使用，並藉由大豆油進行三次萃取所產出的血漿輕微地混濁，此輕微混濁的血漿為無法藉由重力法通過活性碳過濾器及濾菌器進行過濾。

第六實施例

分離術血漿(apheresis plasma)，以百分之 1 磷酸三丁酯(TnBP)及百分之 1 聚氧乙烯(4-5)-對-第三辛基苯酚(Triton X-45) (X45, Triton® X-45, Sigma 公司製造)處理，並以大豆油(序號 S7381, Sigma 公司製造)進行一次的油脂萃取。

依循製造商的操作指南下，以分離術程序收集 2 血漿單位，並且以抗凝血酸檸檬酸葡萄糖(acid-citrate-dextrose anticoagulant, ACDA) (比例為每 100 毫升血液中含有 8 毫升)抗凝此 2 血漿單位。血漿在進行處理程序之前並未去白細胞(leucoreduced)。將血漿冷凍於乾冰酒精浴(dry ice ethanol bath)中，並於攝氏溫度負 30 度(-30 °C)之冰箱中，最多儲存 3 個月。

將 2 捐獻來源的血漿放置於溫度控制水浴槽中，以攝氏溫度 35 度加熱 10 分鐘進行融解。然後混合於第一病毒去活化袋(第一有機溶劑消毒處理袋)中。混合的血漿之體積為 400 毫升。

將 8 毫升的百分之 50/百分之 50 的磷酸三丁酯(TnBP) (Prolabo, VWR 公司製造, Fontenay-sous-bois 地區, 法國)及聚氧乙烯(4-5)-對-第三辛基苯酚(Triton X-45) (X45, Triton® X-45, Sigma 公司製造)混合物，謹慎地加入 400 毫升的血漿中，以達到最終濃度為相對血漿重量百分之 1 的磷酸三丁酯(TnBP)及百分之 1 的聚氧乙烯(4-5)-對-第三辛基苯酚(Triton X-45)。

將血漿/磷酸三丁酯(TnBP)/聚氧乙烯(4-5)-對-第三辛基苯酚(Triton X-45)混合物劇烈地振盪 5 分鐘，以確保不同成分間的充分

混合。將經過此程序之第一病毒去活化袋置入振盪培養箱中，於攝氏溫度 31 度進行培養，並且穩定的溫和搖動(每分鐘轉速 150 轉(150 rpm))30 分鐘進行處理。接著將血漿/磷酸三丁酯(TnBP)/聚氧乙烯(4-5)-對-第三辛基苯酚(Triton X-45)混合物傳輸至第二病毒去活化袋(第二有機溶劑消毒處理袋)，並於相同的狀態下培養 1 小時 30 分鐘。

然後將血漿/磷酸三丁酯(TnBP)/聚氧乙烯(4-5)-對-第三辛基苯酚(Triton X-45)混合物傳輸至漏斗形袋體(油脂萃取袋)中。加入 40 毫升的大豆油(序號 S7381，Sigma 公司製造)至血漿/磷酸三丁酯(TnBP)/聚氧乙烯(4-5)-對-第三辛基苯酚(Triton X-45)混合物中。將血漿/磷酸三丁酯(TnBP)/聚氧乙烯(4-5)-對-第三辛基苯酚(Triton X-45)/百分之 10 大豆油所組成之懸浮液劇烈地振盪至少 1 分鐘，接著放置於振盪培養箱，以確保溫和的搖動至少 15 分鐘。然後將此漏斗形袋體懸置 45 分鐘，以確保油相(上層)及血漿相(下層)的傾析(decantation)。

回收清澈的血漿相。超過 370 毫升的血漿通過一注入液過濾器(infusion filter)，使血漿藉由重力法(不需藉由泵浦提供壓力)通過 Pall 公司所製造之 AKS6 Pall 活性碳過濾器(型號 SUPRAcap 60 SC060XAK6)，其係續接於一 0.2 微米濾菌器(型號 Mini Kleenpak™ 20，序號 KM5EKVP2S)。

結論：結合百分之 1 磷酸三丁酯(TnBP)及百分之 1 聚氧乙烯(4-5)-對-第三辛基苯酚(Triton X-45) (使用其他品牌的聚氧乙烯

(4-5)-對-第三辛基苯酚(Triton X-45))的使用，並藉由大豆油進行一次的萃取，可獲得超過 350 毫升的清澈血漿，此清澈血漿可藉由重力法通過活性碳過濾器及濾菌器進行過濾，以排除有機溶劑消毒試劑、殘留之大豆油、血液細胞碎片、細菌及寄生蟲。

第七實施例

分離術血漿(apheresis plasma)，以百分之 2 磷酸三丁酯(TnBP)處理，並以大豆油(序號 S7381，Sigma 公司製造)進行一次、兩次或三次的油脂萃取。

依循製造商的操作指南下，以分離術程序收集 2 血漿單位，並且以抗凝血酸檸檬酸葡萄糖(acid-citrate-dextrose anticoagulant，ACDA) (比例為每 100 毫升血液中含有 8 毫升)抗凝此 2 血漿單位。血漿在進行處理程序之前並未去白細胞(leucoreduced)。將血漿冷凍於乾冰酒精浴(dry ice ethanol bath)中，並於攝氏溫度負 30 度(-30 °C)之冰箱中，最多儲存 3 個月。

將 2 捐獻來源的血漿放置於溫度控制水浴槽中，以攝氏溫度 35 度加熱 10 分鐘進行融解。然後混合於第一病毒去活化袋(第一有機溶劑消毒處理袋)中。混合的血漿之體積為 400 毫升。

將 8 毫升的磷酸三丁酯(TnBP) (Prolabo，VWR 公司製造，Fontenay-sous-bois 地區，法國)謹慎地加入 400 毫升的血漿中，以達到最終濃度為百分之 2 的磷酸三丁酯(TnBP)。

將血漿/磷酸三丁酯(TnBP)混合物劇烈地振盪 5 分鐘，以確保不同成分間的充分混合。將經過此程序之第一病毒去活化袋置入

振盪培養箱中，於攝氏溫度 37 度進行培養，並且穩定的溫和搖動（每分鐘轉速 150 轉(150 rpm)）30 分鐘進行處理。接著將血漿/磷酸三丁酯(TnBP)混合物傳輸至第二病毒去活化袋(第二有機溶劑消毒處理袋)，並於相同的狀態下培養 1 小時 30 分鐘。

然後將血漿/磷酸三丁酯(TnBP)混合物傳輸至漏斗形袋體(油脂萃取袋)中。加入 40 毫升的大豆油(序號 S7381, Sigma 公司製造)至血漿/磷酸三丁酯(TnBP)混合物中。將血漿/磷酸三丁酯(TnBP)/百分之 10 大豆油所組成之懸浮液劇烈地振盪至少 1 分鐘，接著放置於振盪培養箱，以確保溫和的搖動至少 15 分鐘。然後將此漏斗形袋體懸置 45 分鐘，以確保油相(上層)及血漿相(下層)的傾析(decantation)。

所回收的血漿相非常的混濁，導致回收的血漿無法通過活性碳過濾器(Pall 公司所製造之 AKS6 Pall 活性碳過濾器；型號 SUPRAcap 60 SC060XAK6)進行過濾。

再重複進行兩次的大豆油脂質萃取程序。每次萃取所產生的血漿非常的混濁，致使上述之過濾步驟無法進行。

結論：結合百分之 2 磷酸三丁酯(TnBP)的使用，並藉由大豆油進行一次、兩次或三次的萃取，經由不同次數的萃取所產生的血漿非常的混濁，而無法藉由重力法通過 Pall 公司所製造之 AKS6 Pall 活性碳過濾器(型號 SUPRAcap 60 SC060XAK6)更甚至是濾菌器進行過濾。

第八實施例

分離術血漿(apheresis plasma)，以百分之 1 磷酸三丁酯(TnBP)及百分之 1 聚氧乙烯(4-5)-對-第三辛基苯酚(Triton X-45) (序號 93419, Fluka, Sigma Aldrich 公司製造)處理，並以蓖麻油(castor oil)進行一次、兩次或三次的油脂萃取。

依循製造商的操作指南下，以分離術程序收集 2 血漿單位，並且以抗凝血酸檸檬酸葡萄糖(acid-citrate-dextrose anticoagulant, ACDA) (比例為每 100 毫升血液中含有 8 毫升)抗凝此 2 血漿單位。血漿在進行處理程序之前並未去白細胞(leucoreduced)。將血漿冷凍於乾冰酒精浴(dry ice ethanol bath)中，並於攝氏溫度負 30 度(-30 °C)之冰箱中，最多儲存 3 個月。

將 2 捐獻來源的血漿放置於溫度控制水浴槽中，以攝氏溫度 35 度加熱 10 分鐘進行融解。然後混合於第一病毒去活化袋(第一有機溶劑消毒處理袋)中。混合的血漿之體積為 400 毫升。

將 8 毫升的百分之 50/百分之 50 的磷酸三丁酯(TnBP) (Prolabo, VWR 公司製造, Fontenay-sous-bois 地區, 法國)及聚氧乙烯(4-5)-對-第三辛基苯酚(Triton X-45) (序號 93419, Fluka, Sigma Aldrich 公司製造)混合物，謹慎地加入 400 毫升的血漿中，以達到最終濃度為相對血漿重量百分之 1 的磷酸三丁酯(TnBP)及百分之 1 的聚氧乙烯(4-5)-對-第三辛基苯酚(Triton X-45)。

將血漿/磷酸三丁酯(TnBP)/聚氧乙烯(4-5)-對-第三辛基苯酚(Triton X-45)混合物劇烈地振盪 5 分鐘，以確保不同成分間的充分混合。將經過此程序之第一病毒去活化袋置入振盪培養箱中，於

攝氏溫度 31 度進行培養，並且穩定的溫和搖動(每分鐘轉速 150 轉(150 rpm))30 分鐘進行處理。接著將血漿/磷酸三丁酯(TnBP)/聚氧乙烯(4-5)-對-第三辛基苯酚(Triton X-45)混合物傳輸至第二病毒去活化袋(第二有機溶劑消毒處理袋)，並於相同的狀態下培養 1 小時 30 分鐘。

然後將血漿/磷酸三丁酯(TnBP)/聚氧乙烯(4-5)-對-第三辛基苯酚(Triton X-45)混合物傳輸至漏斗形袋體(油脂萃取袋)中。加入 40 毫升的蓖麻油(castor (= ricinus) oil) (序號 83912，Fluka 公司製造)至血漿/磷酸三丁酯(TnBP)/聚氧乙烯(4-5)-對-第三辛基苯酚(Triton X-45)混合物中。將血漿/磷酸三丁酯(TnBP)/聚氧乙烯(4-5)-對-第三辛基苯酚(Triton X-45)混合物/百分之 10 蓖麻油所組成之懸浮液劇烈地振盪至少 1 分鐘，接著放置於振盪培養箱，以確保溫和的搖動至少 15 分鐘。然後將此漏斗形袋體懸置 45 分鐘，以確保油相(上層)及血漿相(下層)的傾析(decantation)。

所回收的血漿相非常的混濁，導致回收的血漿無法通過活性炭過濾器(Pall 公司所製造之 AKS6 Pall 活性炭過濾器；型號 SUPRAcap 60 SC060XAK6)進行過濾。

再重複進行兩次的油脂質萃取程序。每次萃取後所產生的血漿非常的混濁，致使上述之過濾步驟無法進行。

結論：結合百分之 1 磷酸三丁酯(TnBP)及百分之 1 聚氧乙烯(4-5)-對-第三辛基苯酚(Triton X-45)的使用，並藉由蓖麻油進行一次、兩次或三次的萃取，每次萃取皆產生混濁的血漿，而無法藉

由重力法通過活性碳過濾器或濾菌器進行過濾。

第九實施例

分離術血漿(apheresis plasma)，以百分之 1 磷酸三丁酯(TnBP)及百分之 1 聚乙二醇辛基苯基醚(Triton X-100)處理，並以大豆油(序號 S7381，Sigma 公司製造)進行一次、兩次或三次的油脂萃取。

依循製造商的操作指南下，以分離術程序收集 2 血漿單位，並且以抗凝血酸檸檬酸葡萄糖(acid-citrate-dextrose anticoagulant，ACDA)(比例為每 100 毫升血液中含有 8 毫升)抗凝此 2 血漿單位。血漿在進行處理程序之前並未去白細胞(leucoreduced)。將血漿冷凍於乾冰酒精浴(dry ice ethanol bath)中，並於攝氏溫度負 30 度(-30°C)之冰箱中，最多儲存 3 個月。

將 2 捐獻來源的血漿放置於溫度控制水浴槽中，以攝氏溫度 35 度加熱 10 分鐘進行融解。然後混合於第一病毒去活化袋(第一有機溶劑消毒處理袋)中。混合的血漿之體積為 400 毫升。

將 8 毫升的百分之 50/百分之 50 的磷酸三丁酯(TnBP)(Prolabo，VWR 公司製造，Fontenay-sous-bois 地區，法國)及聚乙二醇辛基苯基醚(Triton X-100)(Merck 公司製造，Darmstadt 地區，德國)混合物，謹慎地加入 400 毫升的血漿中，以達到最終濃度為百分之 1 的磷酸三丁酯(TnBP)及百分之 1 的聚乙二醇辛基苯基醚(Triton X-100)。

將血漿/磷酸三丁酯(TnBP)/聚乙二醇辛基苯基醚(Triton X-100)混合物劇烈地振盪 5 分鐘，以確保不同成分間的充分混合。將經

過此程序之第一病毒去活化袋置入振盪培養箱中，於攝氏溫度 31 度進行培養，並且穩定的溫和搖動(每分鐘轉速 150 轉(150 rpm))30 分鐘進行處理。接著將血漿/磷酸三丁酯(TnBP)/聚乙二醇辛基苯基醚(Triton X-100)混合物傳輸至第二病毒去活化袋(第二有機溶劑消毒處理袋)，並於相同的狀態下培養 1 小時 30 分鐘。

然後將血漿/磷酸三丁酯(TnBP)/聚乙二醇辛基苯基醚(Triton X-100)混合物傳輸至漏斗形袋體(油脂萃取袋)中。加入 40 毫升的大豆油(序號 S7381，Sigma 公司製造)至血漿/磷酸三丁酯(TnBP)/聚乙二醇辛基苯基醚(Triton X-100)混合物中。將血漿/磷酸三丁酯(TnBP)/聚乙二醇辛基苯基醚(Triton X-100)混合物/百分之 10 大豆油所組成之懸浮液劇烈地振盪至少 1 分鐘，接著放置於振盪培養箱，以確保溫和的搖動至少 15 分鐘。然後將此漏斗形袋體懸置 45 分鐘，以確保油相(上層)及血漿相(下層)的傾析(decantation)。

所回收的血漿相非常的混濁，導致回收的血漿無法通過活性碳過濾器(Pall 公司所製造之 AKS6 Pall 活性碳過濾器；型號 SUPRAcap 60 SC060XAK6)進行過濾。

再重複進行兩次的油脂質萃取程序。每次萃取後所產生的血漿非常的混濁，致使上述之過濾步驟無法進行。

結論：結合百分之 1 磷酸三丁酯(TnBP)及百分之 1 聚乙二醇辛基苯基醚(Triton X-100)的使用，並藉由大豆油進行一次、兩次或三次的萃取，每次萃取皆產生混濁的血漿，而無法藉由重力法通過活性碳過濾器或濾菌器進行過濾。

第十實施例

分離術血漿(apheresis plasma)，以百分之 1 磷酸三丁酯(TnBP)及百分之 1 吐溫乳化劑 80 (Tween 80)處理，並以大豆油(序號 S7381，Sigma 公司製造)進行一次、兩次或三次的油脂萃取。

依循製造商的操作指南下，以分離術程序收集 2 血漿單位，並且以抗凝血酸檸檬酸葡萄糖(acid-citrate-dextrose anticoagulant，ACDA)(比例為每 100 毫升血液中含有 8 毫升)抗凝此 2 血漿單位。血漿在進行處理程序之前並未去白細胞(leucoreduced)。將血漿冷凍於乾冰酒精浴(dry ice ethanol bath)中，並於攝氏溫度負 30 度(-30 °C)之冰箱中，最多儲存 3 個月。

將 2 捐獻來源的血漿放置於溫度控制水浴槽中，以攝氏溫度 35 度加熱 10 分鐘進行融解。然後混合於第一病毒去活化袋(第一有機溶劑消毒處理袋)中。混合的血漿之體積約為 400 毫升。

將 8 毫升的百分之 50/百分之 50 的磷酸三丁酯(TnBP)(Prolabo，VWR 公司製造，Fontenay-sous-bois 地區，法國)及吐溫乳化劑 80 (Tween 80)，即聚山梨醇酯 80 (polysorbate 80) (序號 59924，Fluka 公司製造)混合物，謹慎地加入 400 毫升的血漿中，以達到最終濃度為百分之 1 的磷酸三丁酯(TnBP)及百分之 1 的吐溫乳化劑 80 (Tween 80)。

將血漿/磷酸三丁酯(TnBP)/吐溫乳化劑 80 (Tween 80)混合物劇烈地振盪 5 分鐘，以確保不同成分間的充分混合。將經過此程序之第一病毒去活化袋置入振盪培養箱中，於攝氏溫度 31 度進行

培養，並且穩定的溫和搖動(每分鐘轉速 150 轉(150 rpm))30 分鐘進行處理。接著將血漿/磷酸三丁酯(TnBP)/吐溫乳化劑 80 (Tween 80)混合物傳輸至第二病毒去活化袋(第二有機溶劑消毒處理袋)，並於相同的狀態下培養 1 小時 30 分鐘。

然後將血漿/磷酸三丁酯(TnBP)/吐溫乳化劑 80 (Tween 80)混合物傳輸至漏斗形袋體(油脂萃取袋)中。加入 40 毫升的大豆油(序號 S7381, Sigma 公司製造)至血漿/磷酸三丁酯(TnBP)/吐溫乳化劑 80 (Tween 80)混合物中。將血漿/磷酸三丁酯(TnBP)/吐溫乳化劑 80 (Tween 80)混合物/百分之 10 大豆油所組成之懸浮液劇烈地振盪至少 1 分鐘，接著放置於振盪培養箱，以確保溫和的搖動至少 15 分鐘。然後將此漏斗形袋體懸置 45 分鐘，以確保油相(上層)及血漿相(下層)的傾析(decantation)。

所回收的血漿相非常的混濁，導致回收的血漿無法通過活性炭過濾器(Pall 公司所製造之 AKS6 Pall 活性炭過濾器；型號 SUPRAcap 60 SC060XAK6)進行過濾。

再重複進行兩次的油脂質萃取程序。每次萃取後所產生的血漿非常的混濁，致使上述之過濾步驟無法進行。

結論：結合百分之 1 磷酸三丁酯(TnBP)及百分之 1 吐溫乳化劑 80 (Tween 80)的使用，並藉由大豆油進行一次、兩次或三次的萃取，每次萃取皆產生混濁的血漿，而無法藉由重力法通過活性炭過濾器或濾菌器進行過濾。

第十一實施例

回收血漿(recovered plasma)，以百分之 1 磷酸三丁酯(TnBP)及百分之 1 聚氧乙烯(4-5)-對-第三辛基苯酚(Triton X-45) (序號 93419, Fluka, Sigma Aldrich 公司製造)處理，並以大豆油(序號 S7381, Sigma 公司製造)進行一次的油脂萃取。

從全血(whole blood)中製備 2 單位的回收血漿，收集於檸檬酸磷酸右旋葡萄糖(citrate-phosphate-dextrose)抗凝/保存液(anticoagulant/preservative)中(比例為每 100 毫升血液中含有 14 毫升)。係將血液於 4 小時內以 3,600 克之離心力，離心 12 分鐘進行收集。血漿在進行處理程序之前並未去白細胞(leucoreduced)。將血漿冷凍於乾冰酒精浴(dry ice ethanol bath)中，並於攝氏溫度負 30 度(-30°C)之冰箱中，最多儲存 3 個月。

將 2 捐獻來源的血漿放置於溫度控制水浴槽中，以攝氏溫度 35 度加熱 10 分鐘進行融解。然後混合於第一病毒去活化袋(第一有機溶劑消毒處理袋)中。混合的血漿之體積為 400 毫升。

將 8 毫升的百分之 50/百分之 50 的磷酸三丁酯(TnBP)(Prolabo, VWR 公司製造, Fontenay-sous-bois 地區, 法國)及聚氧乙烯(4-5)-對-第三辛基苯酚(Triton X-45) (序號 93419, Fluka, Sigma Aldrich 公司製造)混合物，謹慎地加入 400 毫升的血漿中，以達到最終濃度為相對血漿重量百分之 1 的磷酸三丁酯(TnBP)及百分之 1 的聚氧乙烯(4-5)-對-第三辛基苯酚(Triton X-45)。

將血漿/磷酸三丁酯(TnBP)/聚氧乙烯(4-5)-對-第三辛基苯酚(Triton X-45)混合物劇烈地振盪 5 分鐘，以確保不同成分間的充分

混合。將經過此程序之第一病毒去活化袋置入振盪培養箱中，於攝氏溫度 31 度進行培養，並且穩定的溫和搖動(每分鐘轉速 150 轉(150 rpm))30 分鐘進行處理。接著將血漿/磷酸三丁酯(TnBP)/聚氧乙烯(4-5)-對-第三辛基苯酚(Triton X-45)混合物傳輸至第二病毒去活化袋(第二有機溶劑消毒處理袋)，並於相同的狀態下培養 1 小時 30 分鐘。

然後將血漿/磷酸三丁酯(TnBP)/聚氧乙烯(4-5)-對-第三辛基苯酚(Triton X-45)混合物傳輸至漏斗形袋體(油脂萃取袋)中。加入 40 毫升的大豆油(序號 S7381，Sigma 公司製造)至血漿/磷酸三丁酯(TnBP)/聚氧乙烯(4-5)-對-第三辛基苯酚(Triton X-45)混合物中。將血漿/磷酸三丁酯(TnBP)/聚氧乙烯(4-5)-對-第三辛基苯酚(Triton X-45)/百分之 10 大豆油所組成之懸浮液劇烈地振盪至少 1 分鐘，接著放置於振盪培養箱，以確保溫和的搖動至少 15 分鐘。然後將此漏斗形袋體懸置 45 分鐘，以確保油相(上層)及血漿相(下層)的傾析(decantation)。

回收清澈的血漿相。超過 370 毫升的血漿通過一注入液過濾器(infusion filter)，使血漿藉由重力法(不需藉由泵浦提供壓力)通過 Pall 公司所製造之 AKS6 Pall 活性碳過濾器(型號 SUPRAcap 60 SC060XAK6)，其係續接於一 0.2 微米濾菌器(型號 Mini Kleenpak™ 20，序號 KM5EKVP2S)。

結論：結合百分之 1 磷酸三丁酯(TnBP)及百分之 1 聚氧乙烯(4-5)-對-第三辛基苯酚(Triton X-45)的使用，並藉由大豆油進行一

次的萃取，可獲得超過 350 毫升的清澈回收血漿，此清澈回收血漿可藉由重力法通過活性碳過濾器及濾菌器進行過濾，以排除有機溶劑消毒試劑、殘留之大豆油、血液細胞碎片、細菌及寄生蟲。

第十二實施例

回收血漿(recovered plasma)，以百分之 1 磷酸三丁酯(TnBP)及百分之 1 聚氧乙烯(4-5)-對-第三辛基苯酚(Triton X-45) (序號 93419, Fluka, Sigma Aldrich 公司製造)處理，並以大豆油(序號 19-42500, Penta 公司製造)進行一次的油脂萃取。

從全血(whole blood)中製備 2 單位的回收血漿，全血係收集於檸檬酸磷酸右旋葡萄糖(citrate-phosphate-dextrose)抗凝/保存液(anticoagulant/ preservative)中(比例為每 100 毫升血液中含有 14 毫升)。係將血液於 4 小時內以 3,600 克之離心力，離心 12 分鐘進行收集。血漿在進行處理程序之前並未去白細胞(leucoreduced)。將血漿冷凍於乾冰酒精浴(dry ice ethanol bath)中，並於攝氏溫度負 30 度(-30°C)之冰箱中，最多儲存 3 個月。

將 2 捐獻來源的血漿放置於溫度控制水浴槽中，以攝氏溫度 35 度加熱 10 分鐘進行融解。然後混合於第一病毒去活化袋(第一有機溶劑消毒處理袋)中。混合的血漿之體積為 400 毫升。

將 8 毫升的百分之 50/百分之 50 的磷酸三丁酯(TnBP) (Prolabo, VWR 公司製造, Fontenay-sous-bois 地區, 法國)及聚氧乙烯(4-5)-對-第三辛基苯酚(Triton X-45) (序號 93419, Fluka, Sigma Aldrich 公司製造)混合物，謹慎地加入 400 毫升的血漿中，以達到

最終濃度為相對血漿重量百分之 1 的磷酸三丁酯(TnBP)及百分之 1 的聚氧乙烯(4-5)-對-第三辛基苯酚(Triton X-45)。

將血漿/磷酸三丁酯(TnBP)/聚氧乙烯(4-5)-對-第三辛基苯酚(Triton X-45)混合物劇烈地振盪 5 分鐘，以確保不同成分間的充分混合。將經過此程序之第一病毒去活化袋置入振盪培養箱中，於攝氏溫度 31 度進行培養，並且穩定的溫和搖動(每分鐘轉速 150 轉(150 rpm))30 分鐘進行處理。接著將血漿/磷酸三丁酯(TnBP)/聚氧乙烯(4-5)-對-第三辛基苯酚(Triton X-45)混合物傳輸至第二病毒去活化袋(第二有機溶劑消毒處理袋)，並於相同的狀態下培養 1 小時 30 分鐘。

然後將血漿/磷酸三丁酯(TnBP)/聚氧乙烯(4-5)-對-第三辛基苯酚(Triton X-45)混合物傳輸至漏斗形袋體(油脂萃取袋)中。加入 40 毫升的大豆油(序號 19-42500，Penta 公司製造)至血漿/磷酸三丁酯(TnBP)/聚氧乙烯(4-5)-對-第三辛基苯酚(Triton X-45)混合物中。將血漿/磷酸三丁酯(TnBP)/聚氧乙烯(4-5)-對-第三辛基苯酚(Triton X-45)/百分之 10 大豆油所組成之懸浮液劇烈地振盪至少 1 分鐘，接著放置於振盪培養箱，以確保溫和的搖動至少 15 分鐘。然後將此漏斗形袋體懸置 45 分鐘，以確保油相(上層)及血漿相(下層)的傾析(decantation)。

回收清澈的血漿相。超過 370 毫升的血漿通過一注入液過濾器(infusion filter)，使血漿藉由重力法(不需藉由泵浦提供壓力)通過 Pall 公司所製造之 AKS6 Pall 活性碳過濾器(型號 SUPRAcap 60

SC060XAK6)，其係續接於一 0.2 微米濾菌器(型號 Mini Kleenpak™ 20，序號 KM5EKVP2S)。

結論：結合百分之 1 磷酸三丁酯(TnBP)及百分之 1 聚氧乙烯(4-5)-對-第三辛基苯酚(Triton X-45)的使用，並藉由大豆油進行一次的萃取，可獲得超過 350 毫升的清澈回收血漿，此清澈回收血漿可藉由重力法通過活性碳過濾器及濾菌器進行過濾，以排除有機溶劑消毒試劑、殘留之大豆油、血液細胞碎片、細菌及寄生蟲。

第十三實施例

分離術血漿(apheresis plasma)，以百分之 1 磷酸三丁酯(TnBP)及百分之 1 聚氧乙烯(4-5)-對-第三辛基苯酚(Triton X-45) (X45，Triton® X-45，Sigma 公司製造)處理，並且未經過油脂萃取。

依循製造商的操作指南下，以分離術程序收集 2 血漿單位，並且以抗凝血酸檸檬酸葡萄糖(acid-citrate-dextrose anticoagulant，ACDA) (比例為每 100 毫升血液中含有 8 毫升)抗凝此 2 血漿單位。血漿在進行處理程序之前並未去白細胞(leucoreduced)。將血漿冷凍於乾冰酒精浴(dry ice ethanol bath)中，並於攝氏溫度負 30 度(-30 °C)之冰箱中，最多儲存 3 個月。

將 2 捐獻來源的血漿放置於溫度控制水浴槽中，以攝氏溫度 35 度加熱 10 分鐘進行融解。然後混合於第一病毒去活化袋(第一有機溶劑消毒處理袋)中。混合的血漿之體積為 400 毫升。

將 8 毫升的百分之 50/百分之 50 的磷酸三丁酯(TnBP) (Prolabo，VWR 公司製造，Fontenay-sous-bois 地區，法國)及聚氧

乙烯(4-5)-對-第三辛基苯酚(Triton X-45) (X45, Triton® X-45, Sigma 公司製造)混合物，謹慎地加入 400 毫升的血漿中，以達到最終濃度為相對血漿重量百分之 1 的磷酸三丁酯(TnBP)及百分之 1 的聚氧乙烯(4-5)-對-第三辛基苯酚(Triton X-45)。

將血漿/磷酸三丁酯(TnBP)/聚氧乙烯(4-5)-對-第三辛基苯酚(Triton X-45)混合物劇烈地振盪 5 分鐘，以確保不同成分間的充分混合。將經過此程序之第一病毒去活化袋置入振盪培養箱中，於攝氏溫度 31 度進行培養，並且穩定的溫和搖動(每分鐘轉速 150 轉(150 rpm))30 分鐘進行處理。接著將血漿/磷酸三丁酯(TnBP)/聚氧乙烯(4-5)-對-第三辛基苯酚(Triton X-45)混合物傳輸至第二病毒去活化袋(第二有機溶劑消毒處理袋)，並於相同的狀態下培養 1 小時 30 分鐘。

所回收的血漿相非常的混濁，導致回收的血漿無法通過活性碳過濾器(Pall 公司所製造之 AKS6 Pall 活性碳過濾器；型號 SUPRAcap 60 SC060XAK6)進行過濾。

結論:在百分之 1 磷酸三丁酯(TnBP)及百分之 1 聚氧乙烯(4-5)-對-第三辛基苯酚(Triton X-45)處理之後，必需進行油脂萃取的步驟以獲得清澈的血漿，以及使血漿能通過活性碳過濾器。

如表一所示，為第一實施例中經過處理後的血漿品質(標示為「最終」)相對於起始的血漿品質(標示為「起始」)以 5 個批次進行比較。結果顯示，使用百分之 1 磷酸三丁酯(TnBP)及百分之 1 聚氧乙烯(4-5)-對-第三辛基苯酚(Triton X-45)處理，並且經由大豆

油脂萃取並通過 AKS6 活性碳過濾器及濾菌器進行過濾，並不會改變血漿的蛋白質品質，同時不會改變離子平衡(ion balance)。在經過一次大豆油脂萃取及活性碳過濾後，使最終血漿中的磷酸三丁酯(TnBP)及聚氧乙烯(4-5)-對-第三辛基苯酚(Triton X-45)的含量降低至無法測得的程度。其中 NS：表示差異不明顯(non significant difference)，NA：表示無法測得(not applicable)，*：表示活性碳過濾後。

表一

樣品	酸鹼值 (pH)	滲透壓 (mosm)	鈣 (mg/dl)	鎂 (mg/dl)	銅 (mg/dl)	鐵 (mg/dl)
第 1 批次起始	7,547	331	2,5	1,6	49,7	40
第 1 批次最終	7,25	322	2,2	1,6	16,7	30
第 2 批次起始	7,49	317	3,3	1,5	11	31
第 2 批次最終	7,52	315	2,5	1,5	32	47
第 3 批次起始	7,65	351	2,7	1,6	7,6	59
第 3 批次最終	7,5	307	2,5	1,5	22,4	45
第 4 批次起始	7,59	320	2,8	1,6	39	59
第 4 批次最終	7,259	324	6,8	5,1	5,7	188
第 5 批次起始	7,462	307	2,9	1,3	37	57

第 5 批次最終	7,4	318	3,3	1,6	15,2	31
起始的平均標準差	7.548 ± 0.03	325.2 ± 7.5	2.84 ± 0.13	1.52 ± 0.06	28.86 ± 8.3	49.2 ± 5.8
最終的平均標準差	7.385 ± 0.06	317.2 ± 3.0	3.46 ± 0.85	1.59 ± 0.71	18.4 ± 4.3	68.2 ± 30.2
P 值	P ≤ 0.05	NS	NS	NS	NS	NS

表一(續)

樣品	第二凝血因子 (%)	第五凝血因子 (%)	第八凝血因子 (%)	第九凝血因子 (%)	第十凝血因子 (%)	第十一凝血因子 (%)
第 1 批次起始	131,9	104,7	55,5	118,1	139,7	84,9

第 1 批次最終	134,4	102,8	48,5	103,3	134	61,3
第 2 批次起始	129,4	110,8	60,5	110,8	134	79,2
第 2 批次最終	139,6	112,9	66,8	103,3	132,6	73,2
第 3 批次起始	134,4	157,4	70,6	119	144,3	81
第 3 批次最終	122,5	121,8	66,1	102,5	122,1	69,2
第 4 批次起始	122,5	124,1	83,8	119	111,6	78,3
第 4 批次最終	116	104,7	75,6	97,2	101,4	71,5
第 5 批次起始	114	95,6	67,5	99,4	107,4	67,7
第 5 批次最終	124,7	124,7	85,8	115,3	109,5	82
起始的平均標準差	126.4 ± 3.7	118.5 +/- 10.8	67.6 ± 4.8	113.3 ± 3.8	127.4 ± 7.5	78.2 ± 2.9
最終的平均標準差	127.4	113.4 +/-	68.6	104.3	119.9	71.4

	± 4.2	4.4	± 6.2	± 3.0	± 6.4	± 3.3
P 值	NS	NS	NS	NS	NS	NS

表一(續)

樣品	C 蛋白 (%)	S 蛋白 (%)	凝血酵素原時間 (sec)	活化凝血活酵素時間 (sec)	磷酸三丁酯 (TnBP) (ppm)	聚氧乙烯 (4-5)-對-第三辛基苯酚 (Triton X-45) (ppm)
第 1 批次起始	98,4	22,6	13.2	30.5	NA	NA
第 1 批次最終	122	45,9	14	34.7	<10*	<10*
第 2 批次起始	107,8	20,1	13.5	32.2	NA	NA

第 2 批次最終	113,9	60,7	12.5	31.3	<10*	< 10*
第 3 批次起始	90,9	36,1	14.2	35.3	NA	NA
第 3 批次最終	118,5	44,8	13.4	33.8	<10*	< 10*
第 4 批次起始	79,6	34	14.8	28.4	NA	NA
第 4 批次最終	84	72,7	16.5	38.3	<10*	< 10*
第 5 批次起始	53,3	34,4	14.8	32.6	NA	NA
第 5 批次最終	72	46,7	15.8	30.3	<10*	< 10*
起始的平均標準差	86 ± 9.4	29.4 ± 3.3	14.1 ± 0.6	31.8 ± 2.3		
最終的平均標準差	102.1 ± 10.1	54.2 ± 5.5	14.4 ± 1.5	33.6 ± 2.8		
P 值	NS	P ≤ 0.01	NS	NS		

第十四實施例

來自分離術血漿之微量混合(minipool)的冷凍沉澱品，以百分之1 磷酸三丁酯(TnBP)及百分之1 聚氧乙烯(4-5)-對-第三辛基苯酚(Triton X-45) (X45, Triton® X-45, Sigma 公司製造)處理，並以大豆油(序號 S7381, Sigma 公司製造)進行一次的油脂萃取。

血漿係以分離術程序收集，其依循製造商的操作指南，使用百特(Baxter 自動血漿分離系統(autopheresis C)血細胞分離器(Blood Cell Separator) (百特公司製造，Deerfield 地區，美國)，進行分離術程序。並且以抗凝血酸檸檬酸葡萄糖(acid-citrate-dextrose anticoagulant, ACDA) (比例為每 100 毫升血液中含有 8 毫升)抗凝血漿。

冷凍沉澱品之製備，係將冷凍的血漿於攝氏溫度 4 度隔夜(overnight)融解，直到冷凍之血漿變為泥濘狀。然後將盛裝此血漿之血漿袋，以 3,850 克的離心力，於攝氏溫度負 4 度(-4°C)離心 30 分鐘(離心機之型號為 KR4i, Jouan 公司製造，St Herblain 地區，法國)。完成離心作業後，將血漿袋倒置，以排出實質上所有的冷凍貧乏血漿，而獲得「脫水(dry)」之冷凍沉澱品。

然後將冷凍沉澱品收集袋立即冷凍於攝氏溫度負 20 度或更低的溫度下，最多冷凍 2 個月。

當進行病毒去活化處理時，取出冷凍沉澱品，並放置於攝氏溫度 35 度，正負 5 度的溫度控制水浴槽中 10 分鐘，使冷凍沉澱品在收集袋內融解。

將 8 毫升的無菌葡萄糖/鹽溶液在無菌操作下添加至每一單位及每一收集袋，以手動混合的方式使冷凍沉澱品充分的回溶(resuspend)。將冷凍沉澱品溶液(約為每一收集袋 10 毫升)混合於(pooled) 40 個供應來源(donation)所組成的族群中，並置入於第一病毒去活化袋。混合的冷凍沉澱品(cryoprecipitate pool)之體積為 400 毫升。

將 8 毫升的百分之 50/百分之 50 的磷酸三丁酯(TnBP) (Prolabo, VWR 公司製造, Fontenay-sous-bois 地區, 法國)及聚氧乙烯(4-5)-對-第三辛基苯酚(Triton X-45) (X45, Triton® X-45, Sigma 公司製造)混合物，謹慎地加入 400 毫升的冷凍沉澱品中，以達到最終濃度為百分之 1 的磷酸三丁酯(TnBP)及百分之 1 的聚氧乙烯(4-5)-對-第三辛基苯酚(Triton X-45)。

將冷凍沉澱品/磷酸三丁酯(TnBP)/聚氧乙烯(4-5)-對-第三辛基苯酚(Triton X-45)混合物劇烈地振盪 5 分鐘，以確保不同成分間的充分混合。將經過此程序之第一病毒去活化袋置入振盪培養箱中，於攝氏溫度 31 度進行培養，並且穩定的溫和搖動(每分鐘轉速 150 轉(150 rpm))30 分鐘進行處理。接著將冷凍沉澱品/磷酸三丁酯(TnBP)/聚氧乙烯(4-5)-對-第三辛基苯酚(Triton X-45)混合物傳輸至第二病毒去活化袋(第二有機溶劑消毒處理袋)，並於相同的狀態下培養 1 小時 30 分鐘。

然後將冷凍沉澱品/磷酸三丁酯(TnBP)/聚氧乙烯(4-5)-對-第三辛基苯酚(Triton X-45)混合物傳輸至漏斗形袋體(油脂萃取袋)中。

加入 40 毫升的大豆油(序號 S7381, Sigma 公司製造)至冷凍沉澱品/磷酸三丁酯(TnBP)/聚氧乙烯(4-5)-對-第三辛基苯酚(Triton X-45)混合物中。將冷凍沉澱品/磷酸三丁酯(TnBP)/聚氧乙烯(4-5)-對-第三辛基苯酚(Triton X-45)/百分之 10 大豆油所組成之懸浮液劇烈地振盪至少 1 分鐘，接著放置於振盪培養箱，以確保溫和的搖動至少 15 分鐘。然後將此漏斗形袋體懸置 45 分鐘，以確保油相(上層)及冷凍沉澱品相(下層)的傾析(decantation)。

回收清澈的冷凍沉澱品相。超過 370 毫升的冷凍沉澱品通過一注入液過濾器(infusion filter)，使冷凍沉澱品藉由重力法(不需藉由泵浦提供壓力)通過 Cuno bioCap 30 BC0030 A R32SP 型過濾器(Cuno 公司製造)，然後通過由 Pall 公司所製造之 0.2 微米濾菌器(型號 Mini Kleenpak™ 20，序號 KM5EKVP2S)。

結論：結合百分之 1 磷酸三丁酯(TnBP)及百分之 1 聚氧乙烯(4-5)-對-第三辛基苯酚(Triton X-45)的使用，並藉由大豆油進行一次的萃取，從分離術血漿中可獲得超過 350 毫升清澈的冷凍沉澱品，此清澈的冷凍沉澱品可藉由重力法通過活性碳過濾器及濾菌器進行過濾，以排除有機溶劑消毒試劑、殘留之大豆油、血液細胞碎片、細菌及寄生蟲。

第十五實施例

來自回收血漿之微量混合(minipool)的冷凍沉澱品，以百分之 1 磷酸三丁酯(TnBP)及百分之 1 聚氧乙烯(4-5)-對-第三辛基苯酚(Triton X-45) (X45, Triton® X-45, Sigma 公司製造)處理，並以大

豆油(序號 19-42500, Penta 公司製造)進行一次的油脂萃取。

從全血(whole blood)中獲得回收血漿, 全血係收集於檸檬酸磷酸右旋葡萄糖(citrate-phosphate-dextrose)抗凝/保存液(anticoagulant/preservative)中(比例為每 100 毫升血液中含有 14 毫升)。係將血液於 4 小時內以 3,600 克之離心力, 離心 12 分鐘進行收集。血漿在進行處理程序之前並未去白細胞(leucoreduced)。將血漿冷凍於乾冰酒精浴(dry ice ethanol bath)中, 並於攝氏溫度負 30 度(-30°C)之冰箱中, 最多儲存 3 個月。

冷凍沉澱品之製備, 係將冷凍的血漿於攝氏溫度 4 度隔夜(overnight)融解, 直到冷凍之血漿變為泥濘狀。然後將盛裝此血漿之血漿袋, 以 3,850 克的離心力, 於攝氏溫度負 4 度(-4°C)離心 30 分鐘(離心機之型號為 KR4i, Jouan 公司製造, St Herblain 地區, 法國)。完成離心作業後, 將血漿袋倒置, 以排出實質上所有的冷凍貧乏血漿, 而獲得「脫水(dry)」之冷凍沉澱品。

然後將冷凍沉澱品收集袋立即冷凍於攝氏溫度負 20 度或更低的溫度下, 最多冷凍 2 個月。

當進行病毒去活化處理時, 取出冷凍沉澱品, 並放置於攝氏溫度 35 度, 正負 5 度的溫度控制水浴槽中 10 分鐘, 使冷凍沉澱品在收集袋內融解。

將 8 毫升的無菌葡萄糖/鹽溶液在無菌操作下添加至每一單位及每一收集袋, 以手動混合的方式使冷凍沉澱品充分的回溶(resuspend)。將冷凍沉澱品溶液(約為每一收集袋 10 毫升)混合於

(pooled) 40 個供應來源(donation)所組成的族群中，並置入於第一病毒去活化袋。混合的冷凍沉澱品(cryoprecipitate pool)之體積為 400 毫升。

將 8 毫升的百分之 50/百分之 50 的磷酸三丁酯(TnBP) (Prolabo, VWR 公司製造, Fontenay-sous-bois 地區, 法國)及聚氧乙烯(4-5)-對-第三辛基苯酚(Triton X-45) (X45, Triton® X-45, Sigma 公司製造)混合物, 謹慎地加入 400 毫升的冷凍沉澱品中, 以達到最終濃度為百分之 1 的磷酸三丁酯(TnBP)及百分之 1 的聚氧乙烯(4-5)-對-第三辛基苯酚(Triton X-45)。

將冷凍沉澱品/磷酸三丁酯(TnBP)/聚氧乙烯(4-5)-對-第三辛基苯酚(Triton X-45)混合物劇烈地振盪 5 分鐘, 以確保不同成分間的充分混合。將經過此程序之第一病毒去活化袋置入振盪培養箱中, 於攝氏溫度 31 度進行培養, 並且穩定的溫和搖動(每分鐘轉速 150 轉(150 rpm))30 分鐘進行處理。接著將冷凍沉澱品/磷酸三丁酯(TnBP)/聚氧乙烯(4-5)-對-第三辛基苯酚(Triton X-45)混合物傳輸至第二病毒去活化袋(第二有機溶劑消毒處理袋), 並於相同的狀態下培養 1 小時 30 分鐘。

然後將冷凍沉澱品/磷酸三丁酯(TnBP)/聚氧乙烯(4-5)-對-第三辛基苯酚(Triton X-45)混合物傳輸至漏斗形袋體(油脂萃取袋)中。加入 40 毫升的大豆油(序號 19-42500, Penta 公司製造)至冷凍沉澱品/磷酸三丁酯(TnBP)/聚氧乙烯(4-5)-對-第三辛基苯酚(Triton X-45)混合物中。將冷凍沉澱品/磷酸三丁酯(TnBP)/聚氧乙烯(4-5)-對-第

三辛基苯酚(Triton X-45)/百分之 10 大豆油所組成之懸浮液劇烈地振盪至少 1 分鐘，接著放置於振盪培養箱，以確保溫和的搖動至少 15 分鐘。然後將此漏斗形袋體懸置 45 分鐘，以確保油相(上層)及冷凍沉澱品相(下層)的傾析(decantation)。

回收清澈的冷凍沉澱品相。超過 370 毫升的冷凍沉澱品通過一注入液過濾器(infusion filter)，使冷凍沉澱品藉由重力法(不需藉由泵浦提供壓力)通過 Cuno bioCap 30 BC0030 A R32SP 型過濾器(Cuno 公司製造)，然後通過由 Pall 公司所製造之 0.2 微米濾菌器(型號 Mini Kleenpak™ 20，序號 KM5EKVP2S)。

結論：結合百分之 1 磷酸三丁酯(TnBP)及百分之 1 聚氧乙烯(4-5)-對-第三辛基苯酚(Triton X-45)的使用，並藉由大豆油進行一次的萃取，可獲得超過 350 毫升來自分離術血漿的清澈冷凍沉澱品，此清澈的冷凍沉澱品可藉由重力法通過活性碳過濾器及濾菌器進行過濾，以排除有機溶劑消毒試劑、殘留之大豆油、血液細胞碎片、細菌及寄生蟲。

第十六實施例

來自回收血漿之微量混合(minipool)的冷凍沉澱品，以百分之 1 磷酸三丁酯(TnBP)及百分之 1 聚氧乙烯(4-5)-對-第三辛基苯酚(Triton X-45) (X45, Triton® X-45, Sigma 公司製造)處理，並以蓖麻油(序號 83912, Fluka 公司製造)進行一次、兩次或三次的油脂萃取。

從全血(whole blood)中獲得回收血漿，全血係收集於檸檬酸磷

酸右旋葡萄糖 (citrate-phosphate-dextrose) 抗凝 / 保存液 (anticoagulant/ preservative) 中(比例為每 100 毫升血液中含有 14 毫升)。係將血液於 4 小時內以 3,600 克之離心力，離心 12 分鐘進行收集。血漿在進行處理程序之前並未去白細胞(leucoreduced)。將血漿冷凍於乾冰酒精浴(dry ice ethanol bath)中，並於攝氏溫度負 30 度(-30°C)之冰箱中，最多儲存 3 個月。

冷凍沉澱品之製備，係將冷凍的血漿於攝氏溫度 4 度隔夜 (overnight) 融解，直到冷凍之血漿變為泥濘狀。然後將盛裝此血漿之血漿袋，以 3,850 克的離心力，於攝氏溫度負 4 度(-4°C)離心 30 分鐘(離心機之型號為 KR4i，Jouan 公司製造，St Herblain 地區，法國)。完成離心作業後，將血漿袋倒置，以排出實質上所有的冷凍貧乏血漿，而獲得「脫水(dry)」之冷凍沉澱品。

然後將冷凍沉澱品收集袋立即冷凍於攝氏溫度負 20 度或更低的溫度下，最多冷凍 2 個月。

當進行病毒去活化處理時，取出冷凍沉澱品，並放置於攝氏溫度 35 度，正負 5 度的溫度控制水浴槽中 10 分鐘，使冷凍沉澱品在收集袋內融解。

將 8 毫升的無菌葡萄糖/鹽溶液在無菌操作下添加至每一單位及每一收集袋，以手動混合的方式使冷凍沉澱品充分的回溶 (resuspend)。將冷凍沉澱品溶液(約為每一收集袋 10 毫升)混合於 (pooled) 40 個供應來源(donation)所組成的族群中，並置入於第一病毒去活化袋。混合的冷凍沉澱品(cryoprecipitate pool)之體積為

400 毫升。

將 8 毫升的百分之 50/百分之 50 的磷酸三丁酯(TnBP) (Prolabo, VWR 公司製造, Fontenay-sous-bois 地區, 法國)及聚氧乙烯(4-5)-對-第三辛基苯酚(Triton X-45) (X45, Triton® X-45, Sigma 公司製造)混合物, 謹慎地加入 400 毫升的冷凍沉澱品中, 以達到最終濃度為百分之 1 的磷酸三丁酯(TnBP)及百分之 1 的聚氧乙烯(4-5)-對-第三辛基苯酚(Triton X-45)。

將冷凍沉澱品/磷酸三丁酯(TnBP)/聚氧乙烯(4-5)-對-第三辛基苯酚(Triton X-45)混合物劇烈地振盪 5 分鐘, 以確保不同成分間的充分混合。將經過此程序之第一病毒去活化袋置入振盪培養箱中, 於攝氏溫度 31 度進行培養, 並且穩定的溫和搖動(每分鐘轉速 150 轉(150 rpm))30 分鐘進行處理。接著將冷凍沉澱品/磷酸三丁酯(TnBP)/聚氧乙烯(4-5)-對-第三辛基苯酚(Triton X-45)混合物傳輸至第二病毒去活化袋(第二有機溶劑消毒處理袋), 並於相同的狀態下培養 1 小時 30 分鐘。

然後將冷凍沉澱品/磷酸三丁酯(TnBP)/聚氧乙烯(4-5)-對-第三辛基苯酚(Triton X-45)混合物傳輸至漏斗形袋體(油脂萃取袋)中。加入 40 毫升的蓖麻油(序號 83912, Fluka 公司製造)至冷凍沉澱品/磷酸三丁酯(TnBP)/聚氧乙烯(4-5)-對-第三辛基苯酚(Triton X-45)混合物中。將冷凍沉澱品/磷酸三丁酯(TnBP)/聚氧乙烯(4-5)-對-第三辛基苯酚(Triton X-45)/百分之 10 蓖麻油所組成之懸浮液劇烈地振盪至少 1 分鐘, 接著放置於振盪培養箱, 以確保溫和的搖動至

少 15 分鐘。然後將此漏斗形袋體懸置 45 分鐘，以確保油相(上層)及冷凍沉澱品相(下層)的傾析(decantation)。

所回收的冷凍沉澱品相係混濁的，導致回收的冷凍沉澱品無法通過活性碳過濾器(Cuno bioCap 30 BC0030 A R32SP 型過濾器，Cuno 公司製造)進行過濾。

再重複進行兩次的油脂質萃取程序。每次萃取後所產生的冷凍沉澱品為混濁的，致使上述之過濾步驟無法進行。

結論：結合百分之 1 磷酸三丁酯(TnBP)及百分之 1 聚氧乙烯(4-5)-對-第三辛基苯酚(Triton X-45)的使用，並藉由蓖麻油進行一次的油脂萃取，使來自於回收血漿的冷凍沉澱品混濁，而無法藉由重力法依續通過活性碳過濾器及濾菌器進行過濾。

第十七實施例

來自分離術血漿之微量混合(minipool)的冷凍沉澱品，以百分之 2 磷酸三丁酯(TnBP)處理，並以大豆油(序號 S7381，Sigma 公司製造)進行一次、兩次或三次的油脂萃取。

依循製造商的操作指南下，以分離術程序收集 40 血漿單位，並且以抗凝血酸檸檬酸葡萄糖(acid-citrate-dextrose anticoagulant, ACDA) (比例為每 100 毫升血液中含有 8 毫升)抗凝此 2 血漿單位。血漿在進行處理程序之前並未去白細胞(leucoreduced)。將血漿冷凍於乾冰酒精浴(dry ice ethanol bath)中，並於攝氏溫度負 30 度(-30 °C)之冰箱中，最多儲存 3 個月。

冷凍沉澱品之製備，係將 40 單位冷凍的血漿於攝氏溫度 4 度

隔夜(overnight)融解，直到冷凍之血漿變為泥濘狀。然後將盛裝此血漿之血漿袋，以 3,850 克的離心力，於攝氏溫度負 4 度(-4°C)離心 30 分鐘(離心機之型號為 KR4i, Jouan 公司製造，St Herblain 地區，法國)。完成離心作業後，將血漿袋倒置，以排出實質上所有的冷凍貧乏血漿，而獲得「脫水(dry)」之冷凍沉澱品。

然後將冷凍沉澱品收集袋立即冷凍於攝氏溫度負 20 度或更低的溫度下，最多冷凍 2 個月。

當進行病毒去活化處理時，取出冷凍沉澱品，並放置於攝氏溫度 35 度，正負 5 度的溫度控制水浴槽中 10 分鐘，使冷凍沉澱品在收集袋內融解。

將 8 毫升的無菌葡萄糖/鹽溶液在無菌操作下添加至每一單位及每一收集袋，以手動混合的方式使冷凍沉澱品充分的回溶(resuspend)。將冷凍沉澱品溶液(約為每一收集袋 10 毫升)混合於(pooled) 40 個供應來源(donation)所組成的族群中，並置入於第一病毒去活化袋。混合的冷凍沉澱品(cryoprecipitate pool)之體積為 400 毫升。

將 8 毫升的磷酸三丁酯(TnBP) (Prolabo, VWR 公司製造，Fontenay-sous-bois 地區，法國)謹慎地加入 400 毫升的血漿中，以達到最終濃度為百分之 2 的磷酸三丁酯(TnBP)。

將冷凍沉澱品/磷酸三丁酯(TnBP)混合物劇烈地振盪 5 分鐘，以確保不同成分間的充分混合。將經過此程序之第一病毒去活化袋置入振盪培養箱中，於攝氏溫度 31 度進行培養，並且穩定的溫

和搖動(每分鐘轉速 150 轉(150 rpm))30 分鐘進行處理。接著將冷凍沉澱品/磷酸三丁酯(TnBP)混合物傳輸至第二病毒去活化袋(第二有機溶劑消毒處理袋)，並於相同的狀態下培養 1 小時 30 分鐘。

然後將冷凍沉澱品/磷酸三丁酯(TnBP)混合物傳輸至漏斗形袋體(油脂萃取袋)中。加入 40 毫升的大豆油(序號 S7381，Sigma 公司製造)至冷凍沉澱品/磷酸三丁酯(TnBP)混合物中。將冷凍沉澱品/磷酸三丁酯(TnBP)/百分之 10 大豆油所組成之懸浮液劇烈地振盪至少 1 分鐘，接著放置於振盪培養箱，以確保溫和的搖動至少 15 分鐘。然後將此漏斗形袋體懸置 45 分鐘，以確保油相(上層)及冷凍沉澱品相(下層)的傾析(decantation)。

所回收的冷凍沉澱品相非常的混濁，致使回收的冷凍沉澱品無法通過活性碳過濾器(Cuno bioCap 30 BC0030 A R32SP 型過濾器，Cuno 公司製造)進行過濾。

再重複進行兩次的油脂質萃取程序。每次萃取後所產生的冷凍沉澱品非常的混濁，致使上述之過濾步驟無法進行。

結論：結合百分之 2 磷酸三丁酯(TnBP)的使用，並藉由大豆油進行一次、兩次或三次的油酯萃取，每次萃取皆產生非常混濁的冷凍沉澱品，而無法藉由重力法通過 Cuno bioCap 30 BC0030 A R32SP 型過濾器(Cuno 公司製造)更甚至是濾菌器進行過濾。

第十八實施例

來自分離術血漿之微量混合(minipool)的冷凍沉澱品，以百分之 1 磷酸三丁酯(TnBP)及百分之 1 聚乙二醇辛基苯基醚(Triton

X-100)處理，並以大豆油(序號 S7381, Sigma 公司製造)進行一次、兩次或三次的油脂萃取。

依循製造商的操作指南下，以分離術程序收集 40 血漿單位，並且以抗凝血酸檸檬酸葡萄糖(acid-citrate-dextrose anticoagulant, ACDA) (比例為每 100 毫升血液中含有 8 毫升)抗凝此 2 血漿單位。血漿在進行處理程序之前並未去白細胞(leucoreduced)。將血漿冷凍於乾冰酒精浴(dry ice ethanol bath)中，並於攝氏溫度負 30 度(-30°C)之冰箱中，最多儲存 3 個月。

冷凍沉澱品之製備，係將 40 單位冷凍的血漿於攝氏溫度 4 度隔夜(overnight)融解，直到冷凍之血漿變為泥濘狀。然後將盛裝此血漿之血漿袋，以 3,850 克的離心力，於攝氏溫度負 4 度(-4°C)離心 30 分鐘(離心機之型號為 KR4i, Jouan 公司製造, St Herblain 地區, 法國)。完成離心作業後，將血漿袋倒置，以排出實質上所有的冷凍貧乏血漿，而獲得「脫水(dry)」之冷凍沉澱品。

然後將冷凍沉澱品收集袋立即冷凍於攝氏溫度負 20 度或更低的溫度下，最多冷凍 2 個月。

當進行病毒去活化處理時，取出冷凍沉澱品，並放置於攝氏溫度 35 度，正負 5 度的溫度控制水浴槽中 10 分鐘，使冷凍沉澱品在收集袋內融解。

將 8 毫升的無菌葡萄糖/鹽溶液在無菌操作下添加至每一單位及每一收集袋，以手動混合的方式使冷凍沉澱品充分的回溶(resuspend)。將冷凍沉澱品溶液(約為每一收集袋 10 毫升)混合於

(pooled) 40 個供應來源(donation)所組成的族群中，並置入於第一病毒去活化袋。混合的冷凍沉澱品(cryoprecipitate pool)之體積為 400 毫升。

將 8 毫升的百分之 50/百分之 50 的磷酸三丁酯(TnBP) (Prolabo, VWR 公司製造, Fontenay-sous-bois 地區, 法國)及聚乙二醇辛基苯基醚(Triton X-100) (Merck 公司製造, Darmstadt 地區, 德國)混合物, 謹慎地加入 400 毫升的冷凍沉澱品中, 以達到最終濃度為百分之 1 的磷酸三丁酯(TnBP)及百分之 1 的聚乙二醇辛基苯基醚(Triton X-100)。

將冷凍沉澱品/磷酸三丁酯(TnBP)/聚乙二醇辛基苯基醚(Triton X-100)混合物劇烈地振盪 5 分鐘, 以確保不同成分間的充分混合。將經過此程序之第一病毒去活化袋置入振盪培養箱中, 於攝氏溫度 31 度進行培養, 並且穩定的溫和搖動(每分鐘轉速 150 轉(150 rpm))30 分鐘進行處理。接著將冷凍沉澱品/磷酸三丁酯(TnBP)/聚乙二醇辛基苯基醚(Triton X-100)混合物傳輸至第二病毒去活化袋(第二有機溶劑消毒處理袋), 並於相同的狀態下培養 1 小時 30 分鐘。

然後將冷凍沉澱品/磷酸三丁酯(TnBP)/聚乙二醇辛基苯基醚(Triton X-100)混合物傳輸至漏斗形袋體(油脂萃取袋)中。加入 40 毫升的大豆油(序號 S7381, Sigma 公司製造)至冷凍沉澱品/磷酸三丁酯(TnBP)/聚乙二醇辛基苯基醚(Triton X-100)混合物中。將冷凍沉澱品/磷酸三丁酯(TnBP)/聚乙二醇辛基苯基醚(Triton X-100)/百

分之 10 大豆油所組成之懸浮液劇烈地振盪至少 1 分鐘，接著放置於振盪培養箱，以確保溫和的搖動至少 15 分鐘。然後將此漏斗形袋體懸置 45 分鐘，以確保油相(上層)及冷凍沉澱品相(下層)的傾析(decantation)。

所回收的冷凍沉澱品相係混濁的，致使回收的冷凍沉澱品無法通過活性碳過濾器(Cuno bioCap 30 BC0030 A R32SP 型過濾器，Cuno 公司製造)進行過濾。

再重複進行兩次的油脂質萃取程序。每次萃取後所產生的冷凍沉澱品非常的混濁，致使上述之過濾步驟無法進行。

結論：結合百分之 1 磷酸三丁酯(TnBP)及百分之 1 聚乙二醇辛基苯基醚(Triton X-100)的使用，並藉由大豆油進行一次、兩次或三次的油酯萃取，每次萃取皆產生非常混濁的冷凍沉澱品，而無法藉由重力法通過 Cuno bioCap 30 BC0030 A R32SP 型過濾器(Cuno 公司製造)更甚至是濾菌器進行過濾。

第十九實施例

來自分離術血漿之微量混合(minipool)的冷凍沉澱品，以百分之 1 磷酸三丁酯(TnBP)及百分之 1 聚氧乙烯(4-5)-對-第三辛基苯酚(Triton X-45) (X45, Triton® X-45, Sigma 公司製造)處理，並以大豆油(序號 S7381, Sigma 公司製造)進行一次的油脂萃取，同時以 Cuno BioCap 25 R32SP 型活性碳過濾器(Cuno 公司製造)進行過濾。

冷凍沉澱品之處理方式與第十四實施例所述之內容相同，惟所使用的活性碳過濾器為 Cuno BioCap 25 R32SP 型活性碳過濾

器。

將超過 380 毫升的冷凍沉澱品通過一注入液過濾器(infusion filter)，使冷凍沉澱品可藉由重力法(不需藉由泵浦提供壓力)通過此 Cuno BioCap 25 R32SP 型活性碳過濾器，然後再通過一 0.2 微米濾菌器(Pall 公司製造，型號 Mini Kleenpak™ 20，序號 KM5EKVP2S)。

結論：結合百分之 1 磷酸三丁酯(TnBP)及百分之 1 聚氧乙烯(4-5)-對-第三辛基苯酚(Triton X-45)的使用，並藉由大豆油進行一次的萃取，可獲得超過 350 毫升來自分離術血漿的清澈冷凍沉澱品，此清澈的冷凍沉澱品可藉由重力法通過 Cuno BioCap 25 R32SP 型活性碳過濾器及濾菌器進行過濾，以排除有機溶劑消毒試劑、殘留之大豆油、血液細胞碎片、細菌及寄生蟲。

如表二所示，為第十四實施例中經過處理後的冷凍沉澱品之品質(標示為「最終」)相對於起始的冷凍沉澱品之品質(標示為「起始」)以 2 個批次進行比較。結果顯示，使用百分之 1 磷酸三丁酯(TnBP)及百分之 1 聚氧乙烯(4-5)-對-第三辛基苯酚(Triton X-45)處理，並且經由大豆油脂萃取並通過 Cuno BioCap 25 R32SP 型活性碳過濾器及濾菌器進行過濾，並不會改變冷凍沉澱品的蛋白質品質。在經過一次油脂萃取及活性碳過濾後，使最終血漿中的磷酸三丁酯(TnBP)及聚氧乙烯(4-5)-對-第三辛基苯酚(Triton X-45)的含量降低至無法測得的程度。

表二

	第八凝血因子 (IU)	凝血纖維蛋白原 (g/l)	磷酸三丁酯 (TnBP) (ppm)	聚氧乙烯 (4-5)-對-第三辛基苯酚 (Triton X-45) (ppm)
第 1 批次起始	8.5	16.9	無法測得	無法測得
第 1 批次最終	8.0	15.7	< 10 ppm	< 15ppm
第 2 批次起始	7.5	16.2	無法測得	無法測得
第 1 批次最終	7.3	16.8	< 10ppm	< 15ppm

如表三所示，為第十九實施例中經過處理後的冷凍沉澱品之品質(標示為「最終」)相對於起始的冷凍沉澱品之品質(標示為「起始」)以 1 個批次進行比較。結果顯示，使用百分之 1 磷酸三丁酯 (TnBP) 及百分之 1 聚氧乙烯(4-5)-對-第三辛基苯酚 (Triton X-45) 處理，並且經由大豆油脂萃取並通過 Cuno BioCap 25 R32SP 型活性碳過濾器及濾菌器進行過濾，並不會改變冷凍沉澱品的蛋白質品質。

表三

	第八凝血因子 (IU)	凝血纖維蛋白原 (g/l)
第 1 批次起始	7.3	13.6

第 1 批次最終	7.0	13.5
----------	-----	------

第二十實施例

以百分之 1 磷酸三丁酯(TnBP)及百分之 1 聚氧乙烯(4-5)-對-第三辛基苯酚(Triton X-45)處理血漿，並以大豆油進行一次的油脂萃取。

從 Shabrawishi 醫院(埃及開羅之 Giza 地區)的血液庫中收集血漿，此血漿係來自簽有同意書的規律性自願捐血者。血漿係由全血經分離術程序或回收後獲得，並且冷凍於攝氏溫度負 20 度或更低的溫度下，如 Burnouf 等人於西元 2006 年 12 月，發表於輸血期刊第 46 卷第 12 期，第 2100 至 2108 頁之說明。

將 2 捐獻來源的血漿放置於溫度控制水浴槽中，以攝氏溫度 35 度加熱 10 分鐘進行融解。然後混合於第一病毒去活化袋(第一有機溶劑消毒處理袋)中。混合的血漿之體積為 400 毫升。

依據「第一圖」所示之袋內病毒去活化系統(但不具輸血過濾器等，並於濾菌器 8 及收集袋 9 之間包含另外的收集袋)，以百分之 50/百分之 50 的磷酸三丁酯(TnBP) (Prolabo, VWR 公司製造, Fontenay-sous-bois 地區, 法國)及聚氧乙烯(4-5)-對-第三辛基苯酚(Triton X-45) (序號 93419, Fluka, Sigma Aldrich 公司製造)混合物對血漿進行處理。將血漿/磷酸三丁酯(TnBP)/聚氧乙烯(4-5)-對-第三辛基苯酚(Triton X-45)之混合物以大豆油進行油脂萃取及後續步驟，如第一實施例中之說明。

回收一清澈的血漿相。超過 370 毫升的血漿藉由重力法(不需

藉由泵浦提供壓力)通過 Pall 公司所製造之 AKS6 Pall 活性碳過濾器(型號 SUPRAcap 60 SC060XAK6)，其續接於一 0.2 微米濾菌器(型號 Mini Kleenpak™ 20，序號 KM5EKVP2S)。

將過濾後的血漿於一混合袋中混合，並分裝於兩個單獨的 200 毫升袋體。所有的袋體係以可折斷的閥體隔開，以確保在每一個步驟中隔開。當使用後，將袋體從系統上切除並丟棄。

第二十一實施例

微量混合的冷凍沉澱品，以百分之 1 磷酸三丁酯(TnBP)及百分之 1 聚氧乙烯(4-5)-對-第三辛基苯酚(Triton X-45)處理，並以大豆油進行一次的油脂萃取

冷凍沉澱品之製備，係將冷凍的血漿於攝氏溫度 4 度隔夜(overnight)融解，直到冷凍之血漿變為泥濘狀。經由 3,850 克的離心力(離心機之型號為 KR4i，Jouan 公司製造，St Herblain 地區，法國)，於攝氏溫度負 4 度(-4°C)離心 30 分鐘後，冷凍貧乏血漿幾乎完全的被移除，剩下少量體積的冷凍沉澱品。立即將冷凍沉澱品收集袋冷凍於攝氏溫度負 20 度或更低的溫度，最多冷凍 2 個月。

32 至 40 單位的少量冷凍沉澱品，於無菌操作台中混合於一 400 毫升的袋體內，並使用百分之 1 磷酸三丁酯(TnBP) (Prolabo，VWR 公司製造，Fontenay-sous-bois 地區，法國)及百分之 1 聚氧乙烯(4-5)-對-第三辛基苯酚(Triton X-45) (序號 93419，Fluka，Sigma Aldrich 公司製造)在攝氏溫度 31 度的溫度下進行有機溶劑消毒處理，隨後並以第十五實施例之說明進行油脂萃取，所使用之病毒

去活化系統係依據「第 2 圖」所示之袋內病毒去活化系統(但不具輸血過濾器)。

所獲得的冷凍沉澱品於一混合袋中混合，並分裝於兩個單獨的 40 毫升袋體。所有的袋體係以可折斷的閥體隔開，以確保在每一個步驟中隔開。當使用後，將袋體從系統上切除並丟棄。

第二十二實施例

分析第二十實施例及第二十一實施例所獲得之血漿及冷凍沉澱品。

1. 分析(assays)

血液細胞計數與細胞標誌(marker)測定

血小板、白血球及紅血球細胞計數係使用細胞計數器(Abbott 公司製造, Cell Dyn 型號)來測定。藉由流式細胞儀(flow-cytometry) (Becton-Dickinson 公司製造)測定血液細胞抗原標誌：用於白血球之 CD 41、用於血小板之 CD61 以及用於紅血球之血型糖蛋白 A (Glycophorin A)。

蛋白質分析(Protein assay)

在蛋白質測定之前，將複數個具有起始的血漿及微量混合的冷凍沉澱品，以及具有最終的混合血漿及微量混合冷凍沉澱品的 1 毫升樣品，冷凍於攝氏溫度負 80 度。大多數蛋白質測定係使用習知的程序來完成。以習知的方式完成溫韋伯氏因子(von Willebrand Factor, VWF)瑞斯特徵素輔助因子(ristocetin cofactor, RCo) (VWF:RCo)與膠原蛋白鍵結(VWF:CB)分析、以及溫韋伯氏因子多

聚體(VWF multimer)電泳分離。Berichrom 第十三因子(factor XIII, FXIII)試劑(Siemens 公司製造)測定第十三因子(FXIII)的功能活性，並且藉由 Coamatic AT 試劑(Chromogenix 公司製造)測定抗凝血酶的功能活性。所有的樣品係以同系列分析比較起始及經處理後之血漿物質，以排除分析變異。

聚丙烯醯胺膠體電泳(SDS-PAGE)

在非還原狀態與還原狀態下，藉由聚丙烯醯胺膠體電泳(SDS-PAGE)，對有機溶劑消毒程序前、後的血漿及冷凍沉澱品的蛋白質圖譜進行研究。0.5 微升(μl)的非還原樣品與 2.5 微升的 NUPAGE LDS 4X (Invitrogen 公司製造，Carlsbad 地區，美國加州)樣品緩衝液和 6 微升的放射免疫沉澱(RIPA)緩衝液混合，於攝氏溫度 70 度加熱 10 分鐘，並在嗎林乙基磺酸(MES) (Invitrogen 公司製造)緩衝液中，於百分之 4 至 12 的聚丙烯醯胺梯度膠體上分離。還原樣品除了混合物中添加有 1 微米的 NUPAGE 還原試劑 (Invitrogen 公司製造)外，以相同的條件製備。分離作用係於 200 伏特的恆定電壓，每一膠體 150 毫安培的起始電流，分離 35 分鐘後完成。使用 Novex® Sharp 預染蛋白質分子量標準(Novex® Sharp Pre-Stained Protein Molecular Weight Standard) (Invitrogen 公司製造)進行分子量測定：260、160、110、80、60、50、40、30、20、15、10、及 3.5 仟道爾頓(KDa)。膠體係使用考馬斯藍(coomassie blue)進行染色。

磷酸三丁酯(TnBP)及聚氧乙烯(4-5)-對-第三辛基苯酚

(Triton X-45)分析

從血漿及冷凍沉澱品之樣品萃取出磷酸三丁酯(TnBP)及聚氧乙烯(4-5)-對-第三辛基苯酚(Triton X-45)，並以氣相層析(GC)及高效能液相層析法進行分析，如 Burnouf 等人於西元 2006 年 12 月，發表於輸血期刊第 46 卷第 12 期，第 2100 至 2108 頁之說明。

鄰苯二甲酸二(2-乙基己基)酯(DEHP)分析

於起始及最終之血漿與混合的冷凍沉澱品上測定鄰苯二甲酸二(2-乙基己基)酯(DEHP)。於玻璃試管中混合 1 毫升的血漿或冷凍沉澱品與 0.125 毫升的 1.5 當量過氯酸(perchloric acid) (Riedel-de-Haën 公司製造，Seelze 地區，德國)，並於攝氏溫度 37 度培養 15 分鐘。在培養時間區間結束後，將玻璃試管內的混合物與冰冷的乙醇(Merck 公司製造，德國):氯仿(Fisher-Scientific 公司製造，Illkirch 地區，法國)混合液，以比例 1:1:0.092 毫升進行混合，並且於攝氏溫度負 20 度培養 2 小時。將樣品於 1,000 克離心力下，離心 30 分鐘，同時謹慎地將上清液轉移到乾淨的玻璃試管。將 4 毫升的正己烷(n-hexane) (Merck 公司製造，德國)添加於上清液中，並且劇烈的搖動，然後靜置 5 分鐘以分離為兩層。將上層之正己烷在不擾動界面的情形下轉移至另一乾淨的玻璃試管。重複兩次最後的步驟，並將正己烷收集於同一乾淨的玻璃試管中。使正己烷揮發至乾燥，然後溶解於 1 毫升的乙腈(acetonitrile)中以供高效能液相層析(HPLC) (LabScan 公司製造，英國)。以配備有分析級液體輸送幫浦(analytical pump)(型號 SFD 9414)及紫外光/可見

光偵測儀(型號 S 3210)之高效能液相層析儀(SFD, Schemback GmbH 公司製造, 德國), 在 202 奈米波長及 Lichrospher RP 18-5 μ (250 毫米 x 4.6 毫米)之管柱(CS-Chromatographie 公司製造, 德國)中對鄰苯二甲酸二(2-乙基己基)酯(DEHP)進行測定。使用乙腈與甲醇之比例為 85 比 15 的混合物做為移動相(mobile phase), 以每分鐘 1.5 毫升的流速使用 8 分鐘分析時間。

膽固醇含量

膽固醇含量的測定為使用酵素比色測試, 係由人類診斷公司(human Diagnostic, www.human.de)所製造, 具有液體清除因子的單一試劑。藉由 Spinreact 公司(西班牙)製造之分光光度計, 於波長 546 及每分升(dl) 1 毫克的敏感度分析讀取。

毒性分析

有機溶劑消毒處理之血漿及有機溶劑消毒之冷凍沉澱品的毒性分析, 係於 Sprague Dawley 大鼠上進行測定, 並且比較未經處理之血漿及冷凍沉澱品與控制組鹽水。36 隻重量介於 80 至 100 克的大鼠, 以 4 隻為單位分成 9 組, 包含 2 隻公鼠與 2 隻母鼠。使大鼠於實驗環境下適應七天並紀錄這些大鼠的重量。每一大鼠靜脈注射血漿成分或鹽水, 劑量為每公斤體重 6.5 毫升。然後觀察大鼠 14 天, 每天檢查異常行為或臨床症狀、體重以及每天水分及食物的消耗量。

統計分析

所有系列的實施數據以平均值、標準差及最小值和最大值呈

現。以雙尾配對學生試驗(two-tailed paired Student test)進行統計比較。小於 0.05 的 P 值(p value)被用來測定處理程序中不同步驟所製備的血小板之間，平均前列腺素 F (PGF)濃度的明顯差異。小於 0.01、或 0.001 的 P 值表示差異不明顯(non significant, NS; P 值小於 0.05)。趨近於 0.05 的明確 P 值，表示顯著的差異。

2.結果

血漿

如表四 A 和表四 B 所示，分別表示依據第二十實施例於有機溶劑消毒及過濾處理(有機溶劑消毒處理後以大豆油脂萃取並過濾)前、後的回收血漿(表四 A)或分離術血漿(表四 B)的分析數據(每一組皆連續進行 8 次)。可觀察到良好的保存了血漿的特性。大多數的凝血因子及蛋白酶抑制劑和抗凝血因子在起始血漿及最終血漿(經過有機溶劑消毒及過濾處理的血漿)之間沒有顯著差異，並具有超過百分之 90 至 95 的功能活性回收率。僅在第五凝血因子(FV)的功能活性上觀察到明顯的降低，在回收血漿及分離術血漿中的第五凝血因子(FV)的回收率分別為百分之 88 及百分之 82 (P 值小於 0.01)，並且在回收血漿中的 α_2 -抗血漿素(α_2 -AP)的回收率為百分之 91。同時在回收的最終血漿(P 值小於 0.01)及分離術的最終血漿(P 值小於 0.05)中，在凝血酵素原時間(Prothrombin time, PT)上皆有小幅度但顯著的增加，並且在分離術的最終血漿(P 值小於 0.05)中，活化凝血活酵素時間(Activated partial thromblastin time, aPTT)小幅度但顯著的增加。總蛋白質、蛋白素(albumin)、免疫球

蛋白 G (IgG)及免疫球蛋白 M (IgM)的含量在經過處理後並未明顯的改變。所有的最終血漿符合新鮮冷凍血漿(fresh frozen plasma, FFP)的品質規範。

在所有血漿單位中的磷酸三丁酯(TnBP)及聚氧乙烯(4-5)-對-第三辛基苯酚(Triton X-45)的含量分別少於 10 百萬分率及 50 百萬分率，像徵著油脂萃取程序的效能。

表四 A

回收血漿(連續進行 8 次)				
	起始		最終	
	平均	標準差	平均(回收率 %)	標準差
纖維蛋白原(mg/mL)	293.4	52	277.4 (95%)	54.4
第二凝血因子(IU/mL)	0.94	0.12	0.95 (101%)	0.14
第五凝血因子(IU/mL)	1.27	0.17	1.12 (88%)	0.17
第七凝血因子(IU/mL)	1.02	0.14	0.99 (97%)	0.13
第八凝血因子(IU/mL)	1.24	0.25	1.27 (102%)	0.26
第九凝血因子(IU/mL)	0.98	0.13	0.85 (87%)	0.19
第十凝血因子(IU/mL)	0.87	0.17	0.69 (79%)	0.20
第十一凝血因子 (IU/mL)	0.61	0.12	0.55 (90%)	0.12
第十三凝血因子	0.83	0.26	0.84 (101%)	0.26

(IU/mL)				
溫韋伯氏因子抗原 (IU/mL)	1.12	0.21	1.11 (99.1%)	0.21
溫韋伯氏因子瑞斯特 黴素輔助因子(IU/mL)	1.10	0.25	1.10 (100%)	0.31
S 蛋白(IU/mL)	0.86	0.23	0.96 (112%)	0.08
C 蛋白(IU/mL)	0.76	0.13	0.80 (105%)	0.11
抗凝血酶(IU/mL)	0.88	0.14	0.91 (103%)	0.11
α 2-抗血漿素(IU/mL)	0.89	0.16	0.81 (91%)	0.19
C3 抑制劑(mg/ml)	719	156	686 (95%)	125
免疫球蛋白 G (mg/ml)	8.9	2.25	9.14 (103%)	1.81
免疫球蛋白 A (mg/ml)	1.46	0.15	1.46 (100%)	0.20
免疫球蛋白 M (mg/ml)	1.22	0.35	1.16 (95%)	0.28
蛋白素(mg/ml)	33.2	4.8	32.3 (97%)	4.3
蛋白質(mg/ml)	55.4	4.8	58.7 (106%)	8.26
凝血酵素原時間(sec , 秒)	13.8	0.5	14.3	0.7
活化凝血活酵素時間 (sec)	29.6	2.5	30.9	1.7
膽固醇(mg/ml)	84.0	13.3	無法測得	無法測 得

三酸甘油脂(mg/ml)	81.8	50.1	19.9 (24%)	6.6
--------------	------	------	------------	-----

表四 B

分離術血漿(連續進行 8 次)				
	起始		最終	
	平均	標準差	平均(回收率 %)	標準差
纖維蛋白原(mg/mL)	276.5	51.1	260.2 (94%)	42.5
第二凝血因子(IU/mL)	0.98	0.19	0.95 (97%)	0.12
第五凝血因子(IU/mL)	1.28	0.22	1.05 (82%)	0.25
第七凝血因子(IU/mL)	1.13	0.13	1.09 (96%)	0.11
第八凝血因子(IU/mL)	1.21	0.35	1.27 (105%)	0.35
第九凝血因子(IU/mL)	1.09	0.20	1.04 (95%)	0.20
第十凝血因子(IU/mL)	0.98	0.20	0.96 (98%)	0.15
第十一凝血因子 (IU/mL)	0.80	0.18	0.77 (96%)	0.15
第十三凝血因子 (IU/mL)	0.77	0.22	0.75 (97%)	0.22
溫韋伯氏因子抗原 (IU/mL)	1.19	0.32	1.22 (102%)	0.33
溫韋伯氏因子瑞斯特 黴素輔助因子(IU/mL)	1.04	0.33	1.12 (107%)	0.33

S 蛋白(IU/mL)	0.75	0.20	0.94 (125%)	0.12
C 蛋白(IU/mL)	1.00	0.32	1.04 (104%)	0.31
抗凝血酶(IU/mL)	1.09	0.08	246 (68%)	44
α 2-抗血漿素(IU/mL)	0.98	0.15	1.03 (94%)	0.12
C3 抑制劑(mg/ml)	779	101	827 (106%)	70
免疫球蛋白 G (mg/ml)	7.23	2.09	7.07 (98%)	2.45
免疫球蛋白 A (mg/ml)	1.05	0.32	1.02 (97%)	0.32
免疫球蛋白 M (mg/ml)	0.97	0.26	1.05 (108%)	0.28
蛋白素(mg/ml)	30.01	2.3	29.9 (99%)	2.3
蛋白質(mg/ml)	49.4	3.29	49.1 (99%)	3.2
凝血酵素原時間(sec , 秒)	13.31	0.93	14.21	1.6
活化凝血活酵素時間 (sec)	26.4	2.1	29.4	3.9
膽固醇(mg/ml)	105.7	7.4	3.4 (3%)	7.95
三酸甘油脂(mg/ml)	116.7	47.35	23.6 (20%)	4.9

冷凍沉澱品

如表五所示，為有機溶劑消毒及過濾處理(有機溶劑消毒處理後以大豆油脂萃取並過濾)前、後的微量混合冷凍沉澱品(cryoprecipitate minipools)的分析數據，以及「第 7 圖」所示，為五個不同批次之起始的微量混合冷凍沉澱品(電泳條帶：Cs1、

Cs2、Cs3、Cs4 及 Cs5)以及最終的微量混合冷凍沉澱品(經過有機溶劑消毒處理並過濾的冷凍沉澱品)(電泳條帶：Cf1、Cf2、Cf3、Cf4 及 Cf5)，與基準血漿(reference plasma)(來自 Siemens 公司所製造的標準血漿；電泳條帶：N)的溫韋伯氏因子多聚體圖譜示意圖。在最終的微量混合冷凍沉澱品中第八凝血因子(FVIII)的平均含量趨近於每毫升 9 國際單位(9 IU/ml)，以及趨近於每毫升 15 毫克(15 mg/ml)的纖維蛋白原(fibrinogen)平均含量。在最終的微量混合冷凍沉澱品中溫韋伯氏因子抗原(antigen) (VWF:Ag)、溫韋伯氏因子瑞斯特徵素輔助因子(VWF:RCo)、以及溫韋伯氏因子膠原蛋白鍵結(VWF:CB)的平均含量依序為每毫升 17.5、14.6 及 13.5 國際單位。在起始的微量混合冷凍沉澱品中並沒有觀察到顯著的數值差異。有機溶劑消毒處理並不會影響瑞斯特徵素輔助因子與抗原(RCo/Ag)的平均比例(0.84)以及膠原蛋白鍵結分析與抗原(CBA/Ag)的平均比例(0.87)。最終的微量混合冷凍沉澱品與起始的微量混合冷凍沉澱品，兩者間的多聚體分佈情形並無區別。在每一各別的批次中，起始的微量混合冷凍沉澱品與最終的微量混合冷凍沉澱品之多聚體百分比，分別為大於 15 個單體(mer)與大於 10 個單體，以及個別與標準血漿之多聚體(NP multimer)的比例，如表五中所示。大於 15 個單體的平均百分比約為百分之 7.8 (對應相較於標準血漿之多聚體的比例為 0.8)，以及大於 10 個單體的平均百分比約介於百分之 23.5 (當相較於標準血漿之多聚體的各別比例為 0.92) (未圖示)。膠原蛋白鍵結(CB)活性以及大於 15 個單體含量具有良

好的關聯性。起始的微量混合冷凍沉澱品及最終的微量混合冷凍沉澱品，各別的 A 抗體與 B 抗體同族凝集素(iso-agglutinin)之生物力價範圍分別為 0 至 1 以及 0 至 1/8。

表五

	起始		最終	
	平均	標準差	平均(回收率%)	標準差
第八凝血因子 (IU/mL)	8.66	0.97	9.21 (106%)	1.51
纖維蛋白原 (mg/mL)	17.40	2.73	14.98 (86%)	3.66
第十三凝血因子 (IU/mL)	2.26	0.26	2.46 (109%)	0.29
溫韋伯氏因子 抗原	17.52	1.66	17.08 (97.5%)	1.03
溫韋伯氏因子 瑞斯特徵素輔 助因子	13.46	2.22	14.28 (106%)	2.25
瑞斯特徵素輔 助因子抗原	0.77	0.13	0.84 (109%)	0.14
溫韋伯氏因子 膠原蛋白鍵結	14.60	3.91	14.92 (102%)	3.45
膠原蛋白鍵結	0.83	0.16	0.87 (105%)	0.17

分析抗原

%> 15 單體	7.80	1.59	7.76 (99.5%)	1.34
----------	------	------	--------------	------

> 15 單體 /	0.80	0.16	0.80 (100%)	0.14
-----------	------	------	-------------	------

標準血漿比例

%> 10 單體	23.82	2.02	23.54 (99%)	1.69
----------	-------	------	-------------	------

> 10 單體/標	0.93	0.08	0.92 (99%)	0.07
-----------	------	------	------------	------

準血漿比例

聚丙烯醯胺膠體電泳(SDS-PAGE)

非還原狀態(如「第 3A 圖」所示)及還原狀態(如「第 3B 圖」所示)的電泳圖型並未顯示出起始的血漿(電泳條帶：1、3)與微量混合冷凍沉澱品(電泳條帶：5)，以及相對應之最終的血漿(電泳條帶：2、4)與微量混合冷凍沉澱品(電泳條帶：6)之間有任何可測得的差異。

磷酸三丁酯(TnBP)及聚氧乙烯(4-5)-對-第三辛基苯酚
(Triton X-45)含量

如「第 4 圖」和「第 5 圖」所示，為血漿在經過有機溶劑消毒處理後、油脂萃取後以及過濾後，血漿中磷酸三丁酯(TnBP)及聚氧乙烯(4-5)-對-第三辛基苯酚(Triton X-45)的平均含量。油脂萃取降低殘餘磷酸三丁酯(TnBP)的平均含量至 261 正負 146 (261±146)百萬分率(分離術血漿)以及 393 正負 495 (393±495)百萬分率(回收血漿)，並且在過濾後降低為少於 1 百萬分率(分離術血漿及回收血漿)。各別聚氧乙烯(4-5)-對-第三辛基苯酚(Triton X-45)殘

留量，在油脂萃取後為 2248 正負 1189 (2248 ± 1189) 百萬分率及 1906 正負 660 (1906 ± 660) 百萬分率，以及在過濾後為 18 正負 25 (18 ± 25) 百萬分率及 12 正負 14 (12 ± 14) 百萬分率。在冷凍沉澱品中獲得類似的數值。

鄰苯二甲酸二(2-乙基己基)酯(DEHP)

如表六所示，為依據第二十實施例之分離術血漿或回收血漿中，於各個步驟所測定鄰苯二甲酸二(2-乙基己基)酯(DEHP)的結果。此結果同時顯示於「第 6 圖」中。在起始的分離術血漿及回收血漿中，鄰苯二甲酸二(2-乙基己基)酯(DEHP)的平均含量分別為 14.3 正負 16.3 (14.3 ± 16.3) 百萬分率以及 9.9 正負 6.6 (9.9 ± 6.6) 百萬分率。在經過有機溶劑消毒處理後分別增加至 107.7 正負 140.2 (107.7 ± 6.6) 百萬分率與 70.6 正負 45 (70.6 ± 45) 百萬分率。在油脂萃取後同時降低分離術血漿及回收血漿中的鄰苯二甲酸二(2-乙基己基)酯(DEHP)含量(分別為 33.0 正負 25.5 (33.0 ± 25.5) 百萬分率與 21.6 正負 20.1 (21.6 ± 20.1) 百萬分率)，以及在過濾後同時使分離術血漿及回收血漿中的鄰苯二甲酸二(2-乙基己基)酯(DEHP)的含量降低(分別為 5.1 正負 3.4 (5.1 ± 3.4) 百萬分率與 4.7 正負 3.9 (4.7 ± 3.9) 百萬分率)。在冷凍沉澱品中獲得類似的數值。

表六

樣品形式	平均(ppm)	標準差	樣品數
分離術血漿			

起始	14.34625	16.34411	8
有機溶劑消毒處理後	107.753	140.2421	10
油脂萃取後	33.0154	25.47154	10
最終	5.116	3.49165	10
回收血漿			
起始	9.90175	6.57638	8
有機溶劑消毒處理後	70.577	45.69168	10
油脂萃取後	21.6574	20.1105	10
最終	4.707	3.9412	10

毒性

在施以鹽水的控制組(control)與最終的經過有機溶劑消毒處理之血漿(G8)及冷凍沉澱品(G9)的大鼠群組之間，所獲得的平均重量並無顯著的差異。所獲得的重量高於未經過有機溶劑消毒處理的血漿及冷凍沉澱品之群組。其結果顯示於表七中。其中體重變化的標示為克重(g)。於表七中，G2 為起始的血漿，G3 為起始的冷凍沉澱品，G4 為油脂萃取後的有機溶劑消毒處理之血漿，G5 為油脂萃取後的有機溶劑消毒處理之冷凍沉澱品，G6 為經活性碳過濾後的血漿以及 G7 為經活性碳過濾後的冷凍沉澱品。

表七

處理後天數	控制組	G2	G3	G4	G5	G6
1	± 0,31	-0,42 ± 3,95	2,55 ± 2,76	2,22 ± 1,38	1,91 ± 0,35	2,53 ± 1,10
2	5,15 ± 0,65	3,66 ± 3,84	5,63 ± 2,39	7,00 ± 1,30	5,52 ± 0,66	4,86 ± 1,91
3	8,56 ± 1,16	7,58 ± 4,09	8,05 ± 3,21	9,62 ± 1,14	7,49 ± 2,22	6,75 ± 3,86
4	12,77 ± 1,67	10,60 ± 3,99	12,25 ± 4,11	10,93 ± 1,27	10,57 ± 2,26	10,91 ± 2,85
5	15,75 ± 2,02	11,65 ± 3,26	15,14 ± 4,36	15,19 ± 1,33	14,05 ± 2,49	15,14 ± 2,62
6	21,25 ± 3,67	15,16 ± 3,51	16,24 ± 4,41	16,16 ± 1,10	16,22 ± 2,46	15,89 ± 3,11
7	23,36 ± 3,93	16,88 ± 4,33	19,64 ± 4,50	18,73 ± 1,13	18,55 ± 3,50	20,14 ± 3,43
8	24,75 ± 5,13	20,48 ± 4,97	22,00 ± 4,17	19,29 ± 1,56	19,39 ± 4,35	23,23 ± 4,16
9	30,42 ± 5,22	28,25 ± 4,60	24,19 ± 3,67	22,64 ± 1,75	23,28 ± 4,36	26,65 ± 4,09
10	34,75 ± 5,81	28,13 ± 4,27	27,59 ± 4,61	24,31 ± 1,72	26,38 ± 5,16	28,46 ± 5,44
11	38,00 ± 6,26	29,96 ± 5,41	30,08 ± 4,55	27,17 ± 1,68	29,11 ± 6,65	32,35 ± 5,10

12	40,58 ± 8,37	32,93 ± 6,03	31,18 ± 5,41	30,10 ± 2,12	30,45 ± 7,37	36,05 ± 5,65
13	43,28 ± 8,74	36,75 ± 6,43	34,96 ± 6,00	33,54 ± 2,59	35,17 ± 7,19	40,91 ± 6,30
14	47,65 ± 8,41	39,20 ± 7,38	35,60 ± 5,64	36,34 ± 2,86	37,65 ± 7,87	49,18 ± 10,77

表七(續)

處理後天數	G7	G8	G9
1	0,20 ± 0,98	0,66 ± 2,44	2,00 ± 0,67
2	4,54 ± 1,72	4,50 ± 3,26	7,27 ± 1,19
3	6,62 ± 2,58	5,15 ± 2,99	11,14 ± 1,86
4	9,31 ± 3,44	7,72 ± 3,40	14,13 ± 1,53
5	11,40 ± 4,50	11,20 ± 4,77	16,02 ± 1,95
6	13,69 ± 5,59	12,77 ± 5,20	19,36 ± 2,34
7	21,31 ± 4,68	4,20 ± 3,26	21,35 ± 3,44
8	23,14 ± 4,34	11,28 ± 5,98	23,63 ± 3,56

9	27,17 ± 5,26	14,66 ± 5,19	26,39 ± 4,34
10	30,34 ± 6,87	22,58 ± 2,81	32,37 ± 5,92
11	25,20 ± 9,24	17,01 ± 6,35	32,37 ± 5,92
12	37,07 ± 7,89	23,93 ± 4,08	34,38 ± 6,65
13	41,36 ± 8,52	28,33 ± 3,55	40,54 ± 6,88
14	44,68 ± 9,76	31,57 ± 3,95	43,16 ± 7,00

結論：磷酸三丁酯(TnBP)及聚氧乙烯(4-5)-對-第三辛基苯酚(Triton X-45)的平均殘留量分別少於 10 百萬分率及 50 百萬分率，使有機溶劑消毒處理血漿衍生物及其他的生物產物的範圍獲得了驗證。藉由油脂萃取以及過濾器吸附殘留的化學物質，使超過百分之 90 及百分之 70 的磷酸三丁酯(TnBP)及聚氧乙烯(4-5)-對-第三辛基苯酚(Triton X-45)被移除。這種油脂萃取及過濾的結合方式對於產物品質具有許多的效益。首先，降低起始血漿中鄰苯二甲酸二(2-乙基己基)酯(DEHP)的含量，鄰苯二甲酸二(2-乙基己基)酯(DEHP)為用於製造塑膠袋的可塑劑。再者，降低膽固醇及三酸甘油脂的含量，使最終產物非常的清澈以及對於膽固醇病患的處理具有臨床上的效益。脂質的移除有助於降低脂質相關的輸血相關急性肺損傷(TRALI)的風險。第三，物質上預淨化的血漿，使其可完全的直接在 0.2 微米的薄膜上完成過濾。因此，使最終產物相當的清澈與明亮，即使起始的血漿或冷凍沉澱品輕微的混濁或呈乳白色的。0.2 微米的過濾，可確保裝置在收集、混合血漿分率時，或處理過程中對抗潛在的偶發性細菌污染。同時，程除血液細胞碎片，如本發明所述，如可藉由血漿傳輸的微凝聚體或任何假設的血液細胞內的細菌或寄生蟲。本發明所揭示之內容，為第一個可允許血液庫之血漿成分成功的進行 0.2 微米無菌過濾的方法。

雖然本發明以前述之較佳實施例揭露如上，然其並非用以限定本發明，任何熟習相像技藝者，在不脫離本發明之精神和範圍內，當可作些許之更動與潤飾，因此本發明之專利保護範圍須視

本說明書所附之申請專利範圍所界定者為準。

【圖式簡單說明】

第 1 圖為依據本發明一實施例中用以有機溶劑消毒處理微量混合的血漿(或冷凍貧乏血漿)之袋內病毒去活化系統示意圖；

第 2 圖為依據本發明一實施例中用以有機溶劑消毒處理微量混合的冷凍沉澱品之袋內病毒去活化系統示意圖；

第 3A 圖為有機溶劑消毒處理及過濾(S/D-F)前後(分別為大豆油脂萃取及過濾作用之後的有機溶劑消毒處理)，微量混合的血漿及冷凍沉澱品於未降低狀態下之電泳圖型示意圖；

第 3B 圖為有機溶劑消毒處理及過濾(S/D-F)前後(分別為大豆油脂萃取及過濾作用之後的有機溶劑消毒處理)，小量混合的血漿及冷凍沉澱品於降低狀態下之電泳圖型示意圖；

第 4 圖為依據本發明第二十實施例，在大豆油脂質萃取之後及分離術與回收血漿過濾之後，有機溶劑消毒處理後磷酸三丁脂(TnBP)的平均含量示意圖；

第 5 圖依據本發明第二十實施例，在大豆油脂質萃取之後及分離術與回收血漿過濾之後，有機溶劑消毒處理後聚氧乙烯(4-5)-對-第三辛基苯酚(Triton X-45)的平均含量示意圖；

第 6 圖為依據本發明第二十實施例中分離術血漿或回收血漿處理程序的各種步驟，所測定之鄰苯二甲酸二(2-乙基己基)酯(DEHP)的結果示意圖；以及

第 7 圖為依據本發明於有機溶劑消毒處理前/後之小量混合的

冷凍沉澱品之溫韋伯氏因子多聚體圖譜示意圖。

【主要元件符號說明】

- 1 袋內病毒去活化系統
- 1a 袋內病毒去活化系統
- 2 第一病毒去活化袋
- 3 第二病毒去活化袋
- 4 漏斗形袋體
- 5 回收袋
- 6 輸血過濾器
- 7 活性炭過濾器
- 8 濾菌器
- 9 收集袋
- 10 儲存袋
- 11 第一病毒去活化袋之第一入口
- 12 第一病毒去活化袋之第二入口
- 13 第一病毒去活化袋之出口
- 14 第二病毒去活化袋之入口
- 15 第二病毒去活化袋之出口
- 16 漏斗形袋體之第一入口
- 17 漏斗形袋體之第二入口
- 18 注射器
- 19 漏斗形袋體之出口

200942247

20

回收袋之入口

21

另外的收集袋

發明專利說明書

(本說明書格式、順序，請勿任意更動，※記號部分請勿填寫)

※ 申請案號：P811 0262

A61k 35/14 (2006.01)

※ 申請日：P8.7.27

※IPC 分類：

A61L 2/02 (2006.01)

一、發明名稱：(中文/英文)

病毒去活化之生物流體、生物流體之病毒去活化方法及其使用 /VIRALLY-INACTIVATED BIOLOGICAL FLUID,VIRALLY INACTIVATING METHOD THEREOF AND USE OF THE METHOD

二、中文發明摘要：

本發明係關於一種生物流體之病毒去活化方法，此方法藉由有機溶劑消毒處理生物流體，並接著以油脂萃取及過濾此生物流體。

三、英文發明摘要：

The invention relates to a novel method of virally inactivating biological fluids by solvent/detergent treatment of the fluid, followed by oil extraction and filtration.

七、申請專利範圍：

1. 一種生物流體之病毒去活化方法，包括有：

(a)以包含有一磷酸三丁脂(TnBP)與一聚氧乙烯(4-5)-對-第三辛基苯酚($t\text{-Oct-C}_6\text{H}_4\text{-(OCH}_2\text{CH}_2\text{)}_x\text{OH}$ ， $x \approx 5$ ；Triton X-45)之一混合物對一生物流體進行處理之步驟；

(b)一油脂萃取步驟，其中將含有該磷酸三丁脂(TnBP)與該聚氧乙烯(4-5)-對-第三辛基苯酚($t\text{-Oct-C}_6\text{H}_4\text{-(OCH}_2\text{CH}_2\text{)}_x\text{OH}$ ， $x \approx 5$ ；Triton X-45)之該生物流體，以一相對該生物流體體積 5 至 15 體積百分比之大豆油對該生物流體進行處理，用以將該磷酸三丁脂 (TnBP) 與該聚氧乙烯 (4-5)-對-第三辛基苯酚 ($t\text{-Oct-C}_6\text{H}_4\text{-(OCH}_2\text{CH}_2\text{)}_x\text{OH}$ ， $x \approx 5$ ；Triton X-45)轉移至該大豆油中；

(c)於該步驟(b)後將所回收之該生物流體通過一活性碳過濾裝置；以及

(d)於該步驟(c)後將所回收之該生物流體通過一濾菌器；

其中，以該大豆油進行油脂萃取之步驟係為該生物流體之病毒去活化方法中，唯一的油脂萃取之步驟。

2. 如請求項 1 所述之生物流體之病毒去活化方法，其中該磷酸三丁脂 (TnBP) 及該聚氧乙烯 (4-5)-對-第三辛基苯酚 ($t\text{-Oct-C}_6\text{H}_4\text{-(OCH}_2\text{CH}_2\text{)}_x\text{OH}$ ， $x \approx 5$ ；Triton X-45)之使用量為相對該生物流體體積之 1 體積百分比。

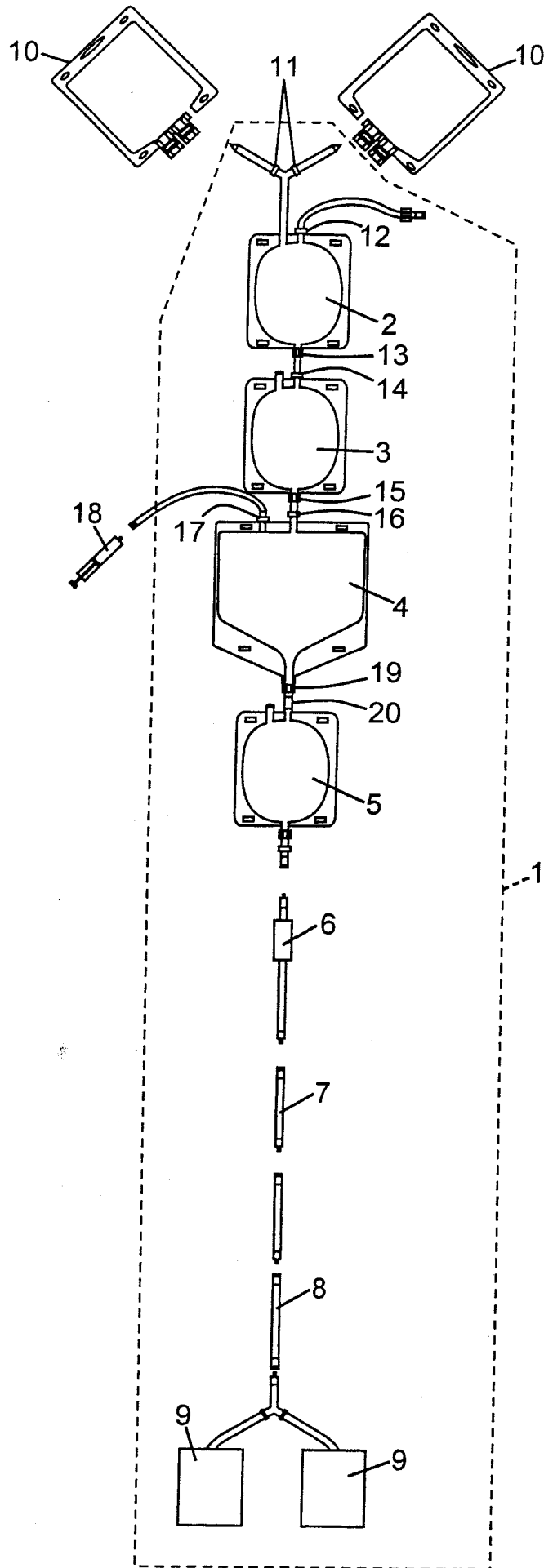
3. 如請求項 1 所述之生物流體之病毒去活化方法，其中該大豆油

的使用量為相對該生物流體體積之 8 至 12 體積百分比。

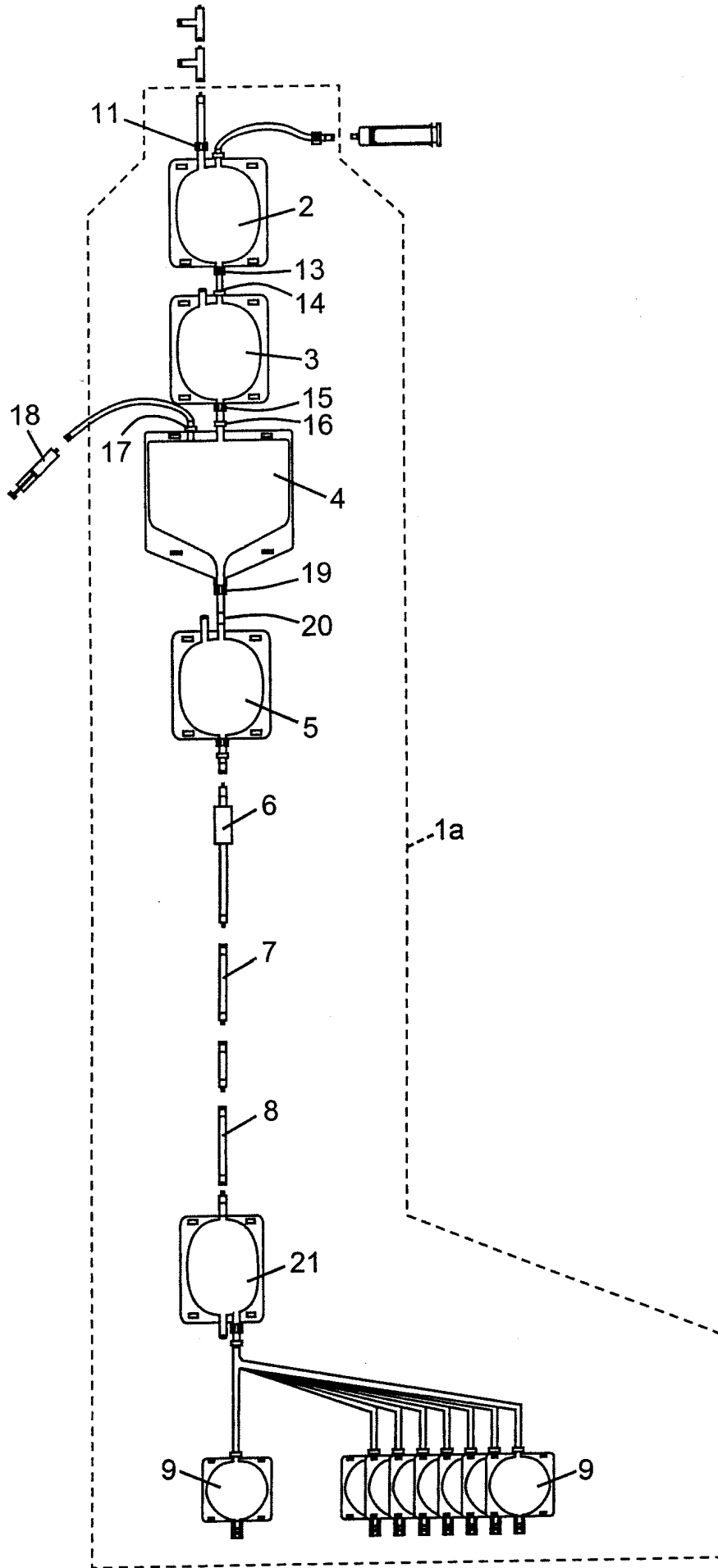
4. 如請求項 1 所述之生物流體之病毒去活化方法，其中該大豆油的使用量為相對該生物流體體積之 10 體積百分比。
5. 如請求項 1 所述之生物流體之病毒去活化方法，其中該步驟(c)之該生物流體係藉由重力法通過該活性碳過濾裝置。
6. 如請求項 1 所述之生物流體之病毒去活化方法，其中該步驟(d)之該生物流體係藉由重力法通過該濾菌器。
7. 如請求項 1 所述之生物流體之病毒去活化方法，其中於該步驟(b)與該步驟(c)之間，更包含一回收該生物流體之步驟。
8. 如請求項 7 所述之生物流體之病毒去活化方法，其中該回收該生物流體之步驟中，該生物流體係藉由重力法通過一輸血過濾器。
9. 如請求項 1 所述之生物流體之病毒去活化方法，係使用一組可拋棄式袋體來進行，該組可拋棄式袋體包含一病毒去活化袋，係使用於該步驟(a)以及一油脂萃取袋，係使用於該步驟(b)，該油脂萃取袋具有一內隔間，該內隔間具有一漏斗狀之下半部接觸於該油脂萃取袋之一出口裝置。
10. 如請求項 9 所述之生物流體之病毒去活化方法，其中該組可拋棄式袋體更包含一活性碳過濾器及一濾菌器。
11. 一種請求項 1 至 8 所述之生物流體之病毒去活化方法的使用，係使用於一微量混合之生物流體的病毒去活化作用。
12. 一種病毒去活化之生物流體，該生物流體係選自由血漿、冷凍

200942247

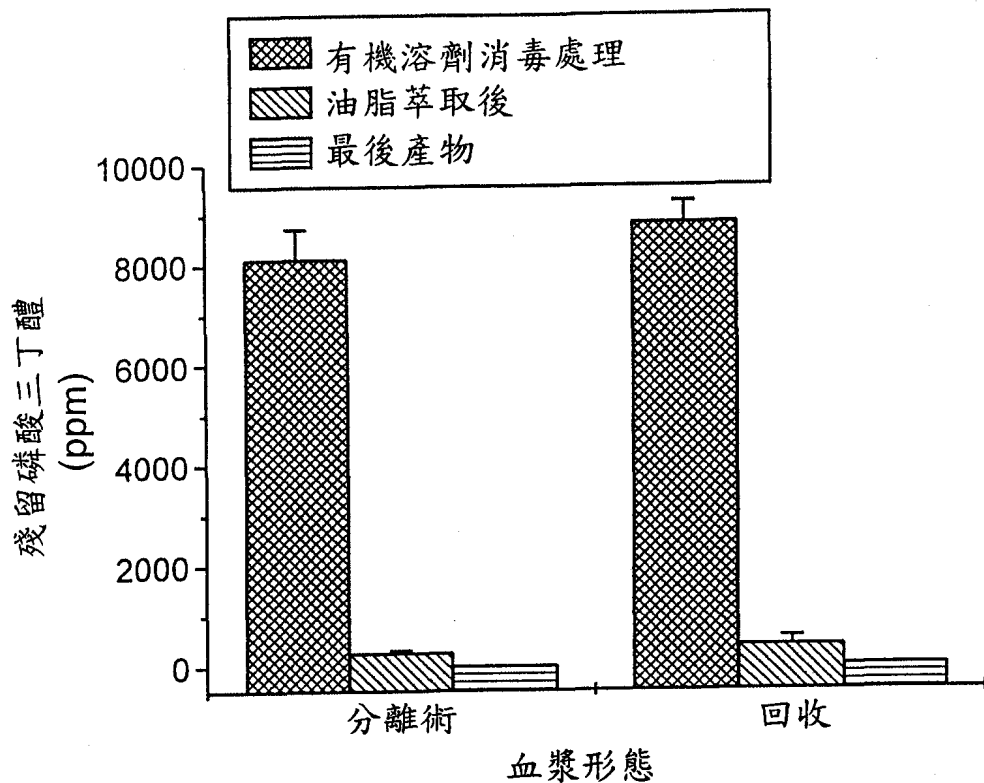
貧乏血漿及冷凍沉澱品所組成之群組，其中該生物流體不具有脂質、血液細胞及細胞碎片。



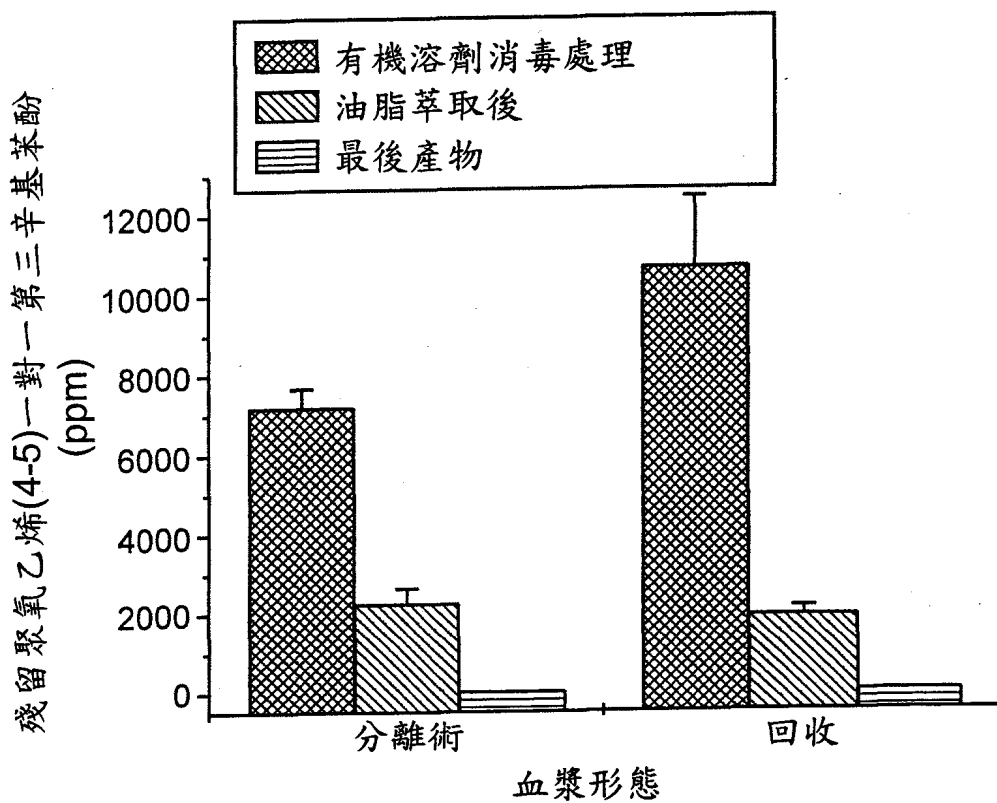
第1圖



第2圖



第4圖



第5圖

四、指定代表圖：

(一)本案指定代表圖為：第(1)圖。

(二)本代表圖之元件符號簡單說明：

- | | |
|----|---------------|
| 1 | 袋內病毒去活化系統 |
| 2 | 第一病毒去活化袋 |
| 3 | 第二病毒去活化袋 |
| 4 | 漏斗形袋體 |
| 5 | 回收袋 |
| 6 | 輸血過濾器 |
| 7 | 活性碳過濾器 |
| 8 | 濾菌器 |
| 9 | 收集袋 |
| 10 | 儲存袋 |
| 11 | 第一病毒去活化袋之第一入口 |
| 12 | 第一病毒去活化袋之第二入口 |
| 13 | 第一病毒去活化袋之出口 |
| 14 | 第二病毒去活化袋之入口 |
| 15 | 第二病毒去活化袋之出口 |
| 16 | 漏斗形袋體之第一入口 |
| 17 | 漏斗形袋體之第二入口 |
| 18 | 注射器 |
| 19 | 漏斗形袋體之出口 |